

Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf wasserlösliche organische Stoffe eines Waldbodens unter Fichte

Methodische und ökologische Untersuchungen im Rahmen des
Freilandexperimentes Höglwald

Dissertation

am Lehrstuhl für Bodenkunde und Standortlehre
der Forstlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Axel Göttlein
München, Mai 1988





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf wasserlösliche organische Stoffe eines Waldbodens unter Fichte

Methodische und ökologische Untersuchungen im Rahmen des
Freilandexperimentes Höglwald

Dissertation

am Lehrstuhl für Bodenkunde und Standortlehre
der Forstlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

vorgelegt von
Axel Göttlein
München, Mai 1988

1. Berichterstatter: Prof. Dr. K.Kreutzer

2. Berichterstatter: Prof. Dr. D.Fengel

Tag der mündlichen Prüfung: 18.7.1988

So eine Arbeit wird eigentlich nie fertig,
man muß sie für fertig erklären, wenn man
nach Zeit und Umständen das Mögliche
getan hat.

J.W.v.Goethe

Danksagung

An erster Stelle sei hier den Betreuern dieser Dissertation, Herrn Prof. Dr. Karl Kreutzer und Herrn Dr. Rudolf Schierl, gedankt. Sie gaben die Anregung zu dieser Arbeit und hatten stets Zeit zur Diskussion praktischer und fachlicher Probleme.

Da die vorliegende Arbeit in ein groß angelegtes Freilandexperiment eingebunden ist, wirkten viele Personen, direkt oder indirekt, an der Entstehung mit. Zu nennen sind hier die wissenschaftlichen und technischen Betreuer der Versuchsanlage, das Laborpersonal und alle Mitarbeiter des Lehrstuhles für Bodenkunde, sowie auch wissenschaftliche Hilfskräfte und Diplomanden. Besonders erwähnen möchte ich an dieser Stelle all jene, mit denen ich im Laufe der letzten Jahre im Raum Nr.11 zusammengearbeitet habe. Auch diejenigen, die mich außerhalb der Universität bei meiner Arbeit unterstützten und die mich in der Endphase des Zusammenschreibens ertragen mußten seien nicht vergessen.

An alle, die sich durch diese Zeilen angesprochen fühlen sage ich "Danke schön, es war eine Freude mit Euch zu arbeiten".

Bei der statistischen Auswertung des gewonnenen Datenmaterials gab Herr Dr.Dr. H. Pruscha vom Lehrstuhl für Mathematik der LMU wertvolle Hilfestellungen.

Für die leihweise Bereitstellung eines Photodiodenarray-Detektors und der dazugehörigen Datenverarbeitung möchte ich mich bei der Fa. Waters, Zweigniederlassung München, herzlich bedanken.

Die Finanzierung der Arbeit erfolgte durch das BMFT.

Inhalt

Vorwort

1. Einleitung, Kenntnisstand und Aufgabenstellung

1.1. Die Bedeutung der wasserlöslichen organischen Stoffe (WOS) für die stoffliche Dynamik im Boden	2
1.2. Ansätze zur Charakterisierung der WOS	3
1.3. Abhängigkeit der WOS von äußeren Faktoren	8
1.4. Untersuchungsziele	10

2. Probematerial

2.1. Bodenproben	11
2.1.1. Herkunft	11
2.1.2. Probenahme	13
2.1.3. Allgemeine Probenbeschreibung	14
2.2. Wässriger Probenextrakt	17
2.2.1. Gewinnung des Bodenextraktes	17
2.2.2. Charakterisierung der Extrakte	18

3. Charakterisierung der WOS mit Hilfe der RP-HPLC

3.1. Theoretische Grundlagen der Methode	19
3.1.1. Grundlagen der Chromatographie	19
3.1.2. Chromatographische Methoden zur Charakterisierung organischer Bodeneinhaltsstoffe	21
3.1.3. Grundlagen der Reversed-phase-HPLC	22
3.2. Geräte	22
3.3. Versuche zur Optimierung der Methode	24
3.3.1. Auswahl des geeigneten Trennsystems	24
3.3.2. Wellenlängenabhängigkeit von WOS-HPLC-Spektren	26
3.3.3. Entwicklung eines Routineverfahrens zur semi- quantitativen Auswertung der Chromatogramme	31
3.4. Versuche zur Identifizierung einzelner Inhaltsstoffe von Wasserextrakten	33
3.5. Beziehung zwischen quantitativer Chromatogrammauswertung und dem DOC-Gehalt der Wasserextrakte	36
3.6. Beziehung zwischen HPLC-Fractionen und der Molekül- größe	38
3.7. Kurze Zusammenfassung der methodischen Untersuchungs- ergebnisse	43

4. Der Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf die WOS

4.1. Ergebnisse der HPLC-Untersuchungen.....	44
4.1.1. Darstellung der Ergebnisse	44
Allgemeiner Zeit- und Tiefenverlauf der WOS auf den Versuchsparzellen	44
Einfluß des zusätzlichen Wasserangebotes, Vergleich Al-C1	56
Einfluß der sauren Beregnung	58
Einfluß der Kombination von Beregnung und Kalkung	60
4.1.2. Statistische Auswertung der Behandlungseffekte	63
4.1.3. Kurze Zusammenfassung der Behandlungseffekte	73
4.2. Einfluß des pH-Wertes auf die WOS	74
4.2.1. Gehalt an WOS in Abhängigkeit vom pH-Wert	74
4.2.2. Computersimulation der pH-abhängigen Löslichkeit organischer Säuren	76
4.3. Komplexierungsverhalten der WOS	86
4.3.1. Versuche zur Al-Komplexierung	86
4.3.2. Zusammenhang zwischen organischen Inhaltsstoffen und Komplexierung von Metallionen in den Wasserextrakten	88
4.3.3. Komplexierung in Abhängigkeit vom pH-Wert	92
4.3.4. Die WOS als Fehlbetrag in der Ionenbilanz	96
4.4. Ergebnisse der Stickstoff-, Zucker- und Phenolbestimmungen	98
4.4.1. Stickstoff	98
4.4.2. Zucker	102
4.4.3. Phenole	106

5. Zusammenfassung der Ergebnisse

5.1. Methodische Ergebnisse	108
5.2. Das Verhalten der WOS auf den einzelnen Versuchs- parzellen	109
5.3. Komplexierungs- und pH-Verhalten der WOS	112

6. Experimentalteil

6.1. Allgemeine Meßmethodik.....	113
6.2. Methode zur Bestimmung des komplexierten Anteils.....	113
6.3. Stickstoff-, Zucker und Phenolbestimmung	114
6.4. Datenverarbeitung und Auswertung	117

7. Literaturverzeichnis

118

Vorwort

Der Wald als wesentlicher Teil unserer natürlichen Lebensgrundlage ist unter dem Einfluß unserer modernen Zivilisation vielfältigen Belastungen unterworfen. Neben seiner wirtschaftlichen Nutzung gewinnen die ökologischen Faktoren und der Freizeitwert der Waldflächen zunehmend an Bedeutung.

Die seit Beginn der achtziger Jahre verstärkt auftretenden neuartigen Waldschäden ("Waldsterben") stellen eine Gefährdung sowohl der ökonomischen, als auch der ökologischen Funktionen unserer Wälder dar. Das Attribut "neuartig" kennzeichnet die Tatsache, daß die Schädigungen großflächig in Erscheinung treten und Waldbestände aller Standorte, Baumarten und Wirtschaftsformen betroffen sind.

Gleichzeitig wurde deutlich, daß unser Wissen um die Vorgänge und Zusammenhänge in einem so komplexen Ökosystem nicht ausreicht, um das Phänomen "neuartige Waldschäden" zu erklären. Naturwissenschaftler aller Fachrichtungen sind derzeit damit beschäftigt den Lebensraum Wald an sich und dessen Wechselwirkung mit seiner Umwelt näher zu erforschen.

Die hier vorliegende Arbeit ist nur ein kleiner Mosaikstein in einem noch sehr unvollständigen Bild von einem Ökosystem, das wie kein anderes unsere Umwelt prägt.

Ausgewählte Teile dieser Arbeit wurden bereits veröffentlicht (GÖTTLEIN et al. 1986; SCHREIBL et al. 1986) bzw. auf Fachtagungen vorgestellt (I. Huminstoffsymposium der DBG, Bayreuth November 1985; II. Huminstoffsymposium der DBG, Göttingen April 1988; Jahrestagung der Fachgruppe Wasserchemie in der GDCh, Bad Neuenahr Mai 1988).



1. Einleitung, Kenntnisstand und Aufgabenstellung

1.1. Die Bedeutung der wasserlöslichen organischen Stoffe (WOS) für die stoffliche Dynamik im Boden

Der "Bestandesabfall" und dessen Abbau im Boden stellt einen wichtigen Teil des Nährstoffkreislaufes im Ökosystem dar. Ferner sind die im Bodenwasser gelösten und die in ungelöster Form vorhandenen organischen Stoffe ein bedeutender Faktor der Bodenbildung und Bodenentwicklung. Sie bestimmen unter anderem durch ihren Abbau das biologische und mikrobiologische Geschehen, durch die Bildung metallorganischer Komplexe die Mineralverwitterung und die Verlagerung von Metallen im Boden. Ferner beeinflussen sie durch Adsorption und Bindung an mineralische Oberflächen das Aggregatgefüge und die Wasserkapazität von Bodenhorizonten (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982; SCHEPPER/ULRICH 1960).

Die bekannten Begriffe Humus und Huminstoff werden zur Bezeichnung der ständigen Wandel, Abbau und Aufbau unterworfenen organischen Bodensubstanz verwendet. In der Literatur ist aufgrund methodischer Unklarheiten keine einheitliche Definition dieser beiden Begriffe gegeben. Nach neuerem Verständnis ist unter Humus die Gesamtheit der in und auf dem Boden befindlichen abgestorbenen und durch postmortale Umsetzungen entstandenen pflanzlichen und tierischen Stoffe zu verstehen (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982, SCHEPPER/ULRICH 1960). Die als Ergebnis der Humifizierung erhaltenen Huminstoffe werden eher verschwommen als "hochmolekulare, dunkle organische Verbindungen" (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982) bezeichnet, die als "einigermaßen stabile Form organischen Materials nicht durch Lebensvorgänge innerhalb einer Zelle oder eines Organismus kontrolliert sind" (SCHEPPER/ULRICH 1960).

Die Einteilung der Huminstoffe in Fulvosäuren, Huminsäuren und deren Untergruppen ist operativer Art und gründet sich auf unterschiedliche Lösungseigenschaften einzelner Fraktionen. Diese Klassifizierung ist für die Bearbeitung ökologisch ausgerichteter Problemstellungen unzureichend.

Da keiner der oben genannten Begriffe die in dieser Arbeit untersuchten organischen Bodeneinhaltsstoffe hinreichend kennzeichnet, soll an dieser Stelle die Umschreibung "wasserlösliche organische Stoffe" (WOS) als Arbeitsbezeichnung eingeführt werden.

Unter WOS ist die Gesamtheit der in der Bodenlösung bzw. in wässrigen Bodenextrakten zu findenden organischen Inhaltsstoffe zu verstehen. Dieser gelöste Anteil der organischen Bodensubstanz ist besonders bei Komplexierungs- und Verlagerungsvorgängen von Bedeutung. Dabei ist vor allem der bodengenetisch bedeutsame Prozeß der Podsolierung, d.h. der abwärtsgerichteten Umlagerung von Aluminium- und Eisenoxiden, zu nennen (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982; SCHEPPER/ULRICH 1960; WRIGHT u. SCHNITZER 1963). Doch auch bei der Komplexierung und Verlagerung anthropogen bedingter Schwermetallbelastungen in Böden wird der WOS eine entscheidende Rolle beigemessen (SCHEPPER, SCHACHTSCHABEL 1982; HERMS u. BROMMER 1984; GRUBB et al. 1985). Ein weiterer wichtiger Punkt ist das Zusammenspiel von WOS und Pflanzenwurzel. So ist bekannt, daß Aluminiumionen in Gegenwart von WOS aufgrund deren komplexierenden Eigenschaften weit weniger toxisch wirken als das freie Al^{3+} -Ion (HUE et al. 1986; TAN u. BINGER 1986). Die WOS können somit zu einer Förderung des Pflanzenwachstums beitragen. Doch auch der gegenteilige Fall, nämlich die Hemmung von Pflanzenwachstum und Zersetzerorganismen durch im Bodenwasser gelöste organische Hemmstoffe, wie z.B. Tannine, kann beobachtet werden (SCHEPPER/ULRICH 1960; BENNETT u. STARKY 1968). Es wird somit deutlich, daß die WOS sowohl aus bodengenetischer als auch aus pflanzenphysiologischer Sicht von großer, aber bisher kaum quantifizierbarer Bedeutung sind. Es schien deshalb sinnvoll, Studien über WOS in die im Rahmen des Höglwaldprojektes regelmäßig durchzuführenden Untersuchungen einzubeziehen.

1.2. Ansätze zur Charakterisierung der WOS

Das Gebiet der organischen Bodeneinhaltsstoffe gehört zweifelsohne zu den Teilbereichen der Bodenkunde, die der Wissenschaft noch große Rätsel aufgeben.

Chemie und Struktur der WOS entziehen sich einer genauen Analyse, da diese Naturstoffe weder eine definierte Summenformel besitzen, noch ein festgelegtes Aufbauprinzip erkennen lassen. Ferner reagieren sie äußerst

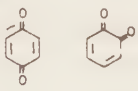
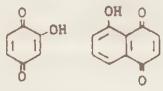
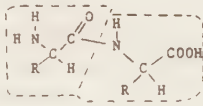
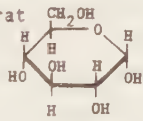
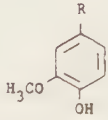
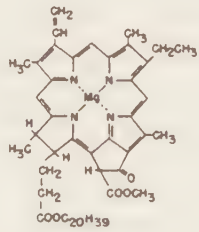
sensibel auf Veränderungen ihrer Umgebung, was ihre Isolierung wesentlich erschwert, wenn nicht sogar unmöglich macht (GROSH u. SCHNITZER 1980; KHAIRY u. ZIECHMANN 1981; FROMMEL 1986).

Als klassische Methoden der Huminstoffanalytik können die Elementaranalyse, die Analyse funktioneller Gruppen und chemische Abbaureaktionen gesehen werden (STEVENSON 1982). Man erhält auf diese Weise wichtige Informationen über die Zusammensetzung dieser Naturstoffe. Da diese Methoden aber stets eine Strukturveränderung bzw. -zerstörung mit sich bringen ist die Übertragung der gewonnenen Ergebnisse auf die natürlichen Verhältnisse im Boden problematisch, oft sogar unmöglich. In Tab.1.1 sind die wichtigsten funktionellen Gruppen und Strukturelemente aufgeführt, woraus die große Variabilität im Aufbau dieser Stoffgruppe deutlich wird.

Nach gängiger Lehrbuchbeschreibung bestehen Huminstoffe vorwiegend aus phenolischen Bausteinen, welche aus Ligninbaugruppen als Ausgangsverbindungen entstehen. (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982; STEVENSON 1982; SCHEPPER/ULRICH 1960; FLAG et al. 1975)

Die Ergebnisse neuerer Untersuchungen zeigen jedoch, daß die Bedeutung aromatischer Strukturen im Bauprinzip weit weniger ins Gewicht fällt. Dabei spielt vor allem die Kernresonanzspektroskopie (^1H - und ^{13}C -NMR) eine wesentliche Rolle, da mit dieser Methode gezeigt werden kann, daß das Huminstoffgerüst nur zu etwa einem Viertel aus aromatischen Strukturen besteht. Der Rest entfällt zu etwa gleichen Teilen auf aliphatische, Kohlenhydrat- und Carboxyl- bzw. Ester-Bausteine (KÖGEL 1987; WILSON 1981; PRESTON u. BLACKWELL 1985).

Tab.1.1: Wichtige funktionelle Gruppen und Strukturelemente der organischen Bodeneinhaltsstoffe; zusammengestellt aus STEVENSON (1982)

Amino	$-\text{NH}_2$	Anhydrid	$\begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \parallel \quad \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{C}-\text{R}' \end{array}$
Amin	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}-\text{C}-\text{NH}_2 \\ \\ \text{H} \end{array}$	Imin	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}-\text{C}=\text{NH} \end{array}, \text{R}-\text{CHNH}$
Amid	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{NH}_2 \end{array}$	Imino	$=\text{NH}$
Alkohol	$\text{R}-\text{CH}_2\text{OH}$	Ether	$\text{R}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{CH}_2-\text{R}'$
Aldehyd	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \\ \text{R}-\text{C}=\text{O} \end{array}, \text{R}-\text{CHO}$	Ester	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}-\text{R}' \end{array}, \text{R}-\text{COOR}'$
Carboxyl	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{OH} \end{array}, \text{R}-\text{COOH}$	Chinon	
Carboxylat-ion	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{O}^- \end{array}, \text{R}-\text{COO}^-$	Enol	$\text{R}-\text{CH}=\text{CH}-\text{OH}$
Keton	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{R}' \end{array}, \text{R}-\text{CO}-\text{R}'$	Hydroxy-chinon	
Ketosäure	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{R}-\text{C}-\text{COOH} \end{array}$	Peptid	
unges. Carbonyl	$\begin{array}{c} \text{H} \quad \text{H} \quad \text{H} \\ \quad \quad \\ -\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O} \end{array}$	Kohlehydrat	
Phenol		Ring-stickstoff	
Aminosäure	$\begin{array}{c} \text{R}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{NH}_2 \end{array}$		

Eine Charakterisierung der WOS sollte deshalb entweder Summenparameter zur allgemeinen Beschreibung oder gezielt Teilbereiche der organischen Inhaltsstoffe erfassen.

Aufgrund der bisherigen Annahme, daß phenolische Einheiten wesentliche Bauelemente der Huminstoffe darstellen, beschäftigt sich ein großer Teil einschlägiger Veröffentlichungen mit dieser Substanzklasse. Dabei werden Phenole vor allem als Bausteine nach erfolgtem oxidativem oder hydrolytischem Abbau organischer Bodensubstanz nachgewiesen (KÖGEL 1985; RIPPALDI u. SCHMITZER 1973). Der Nachweis freier Phenole in der Bodenlösung bzw. in Bodenextrakten erfolgt mittels GC oder HPLC. Der Gehalt dieser Verbindungen ist dabei naturgemäß gering, da sie sowohl der Adsorption an mineralische Oberflächen (KATASE 1981; HUANG et al. 1977; SHINDO u. KUWATSUKA 1976), als auch chemischen Abbaureaktionen unterliegen (LEHMANN et al. 1987; SHINDO u. KUWATSUKA 1975, 1978; KASSIM et al. 1981). Von den untersuchten Benzoe- und Zimtsäurederivaten können daher nur einige Vertreter dieser Substanzklasse in nennenswerter Konzentration nachgewiesen werden. Dabei handelt es sich vor allem um Gallussäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure, p-Hydroxybenzoesäure und Vanillinsäure. (KÖGEL u. ZECH 1985; SHINDO u. KUWATSUKA 1978b).

Neben den aromatischen Bausteinen spielen auch Kohlenhydrateinheiten eine wesentliche Rolle beim Aufbau der organischen Bodensubstanz. Ihr Nachweis erfolgt vor allem in Bodenhydrolysaten chromatographisch (SWEET u. PERDUE 1982) oder mittels Farbreaktionen (BRINK et al. 1960; IVARSON u. SOWDEN 1962). Da ständig Abbaureaktionen ablaufen sind freie Zucker nur in geringer Menge im Boden zu erwarten (CHESHIRE et al. 1974).

Wird der Nachweis wassergelöster Kohlenhydrate ohne vorausgegangene Hydrolyse durchgeführt, so lassen sich nur ca. 2.6% der gesamten hydrolytisch bestimmten Kohlenhydratmenge finden (SWEET u. PERDUE 1982). Die Hauptmenge der im Boden bzw. in gelöster Form vorhandenen Zucker liegt somit glycosidisch gebunden vor. Die Gesamtmenge an Kohlenhydraten im Boden liegt je nach Bodenhorizont im Oberboden bei ca. 3 bis 10% des Gesamtkohlenstoffes (BRINK et al. 1960; GREENLAND u. OADES 1975; STEVENSON 1982; FLAIG 1971).

Freie Aminosäuren sind erwartungsgemäß nur in sehr geringem Umfang im Boden zu finden, da sie wie die Kohlenhydrate als Nahrungsgrundlage der mikrobiellen Population dienen. In den Auflagehorizonten finden sich ca. 50-60mg/100g Trockenboden an freien Aminosäuren, im Mineralboden lassen sich dagegen nur noch Spuren nachweisen; der Gesamtgehalt an Aminosäuren nach erfolgter Hydrolyse liegt je nach Bodentyp und Horizont im Bereich von 150 bis 1000mg/100g Trockenboden (FLAIG 1971; PARSONS u. TINSLEY 1975). Aminosäuren repräsentieren nur ca. 45% des im Boden organisch gebundenen Stickstoffes, der restliche organische Stickstoff findet sich in Aminozyklern, Aminen und als Ringstickstoff (STEVENSON 1982; SCHMITZER u. SPITTELER 1986).

Bisher wenig untersucht wurden Substanzen, die als niedermolekulare organische Säuren bezeichnet werden, da sie nach klassischer Definition nicht in den Bereich der Huminstoffe fallen. Diese Verbindungen, von denen als wichtigste Oxalsäure, Citronensäure und Äpfelsäure zu nennen sind, stellen Endprodukte im Abbau organischer Bodensubstanz bzw. Wurzelausscheidungsprodukte dar. Ihre Menge liegt in der Größenordnung von 2 bis 30mg pro Liter Extrakt, wobei besonders Oxal- und Citronensäure durch ihre guten Komplexbildungseigenschaften eine wesentliche Rolle bei Lösungs- und Verlagerungsvorgängen von Al, Fe und Mn spielen (MCCOLL u. POHLMAN 1986; JAUREGUI u. REISENAUER 1982; KAUICHIV et al. 1963; MANLEY u. EVANS 1986; NGKBBKONG u. HUANG 1979; JARDINE u. ZBLAZNY 1987).

Im Gegensatz zu den bisher aufgezeigten Untersuchungen einzelner Stoffgruppen steht der Ansatz, das Verhalten der WOS über die Erfassung von Summenparametern näher zu charakterisieren. Neben der Bestimmung von Gesamtsäuretitration, Kationenaustauschkapazität etc. wurde bereits frühzeitig der Versuch unternommen organische Bodeninhaltsstoffe nach ihrer Molekülgröße zu fraktionieren. Das Ergebnis der dabei angewendeten gel-chromatographischen Methoden hängt aber stark von äußeren Parametern, wie Probemenge und Ionenstärke des Elutionsmittels ab (TSUTSUKI u. KUWATSUKA 1984; SWIFT u. POSNER 1971). Die erhaltenen Gelchromatogramme sind oft nur schwach strukturiert, wobei in den meisten Fällen je ein Maximum im Bereich der nieder- bzw. höhermolekularen Verbindungen beobachtet werden kann (DAWSON et al. 1981; KATAYAMA et al. 1986; TAN 1977; ANDERSON u. HEPBURN 1977).

Der Einsatz der Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie (HPLC) erfolgte bisher hauptsächlich zum Nachweis einzelner Stoffgruppen nach entsprechender Probenvorbereitungen (KÖGEL 1983; HARTLEY u. BUCHAN 1979; KÖGEL u. ZECH 1985; MCCOLL u. POHLMAN 1986). Untersuchungen, in denen die HPLC als eine Methode zur Erfassung eines Summenparameters verwendet wurde sind bislang nur sporadisch durchgeführt worden (CREED 1976; WERNER 1978; BECHER et al. 1983). Es ist das Ziel der vorliegenden Arbeit, die Möglichkeiten der Reversed-phase-HPLC zur Erfassung eines "Fingerabdruckes" des Summenparameters "Polarität der WOS" im Rahmen einer ökologischen Langzeituntersuchung auszuloten.

1.3. Abhängigkeit der WOS von äußeren Faktoren

Seit den fünfziger Jahren wird in vielen Waldböden Deutschlands eine tendenzielle Absenkung der pH-Werte festgestellt (GRENZUS 1984; WITTMANN u. PETZER 1982; BUTZE 1981). Die Ursachen dieses Prozesses können sowohl im Eintrag von Säuren durch Luftverunreinigungen, als auch in der Säurebildung durch boden- und bestandesinterne Vorgänge liegen.

Ohne anthropogene Beeinflussung bestimmen Klima, Verwitterung, Mineralisation und Nährstoffaufnahme der Pflanzen die Aciditätsverhältnisse im Boden (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982). Dabei kommt in unseren Breiten besonders dem Niederschlag eine wichtige Bedeutung zu, da er Lösungs- und Transportvorgänge ermöglicht und bei hoher Versickerungsrate eine Entkalkung und Tonverlagerung bedingt, die zur allmählichen pH-Erniedrigung im Oberboden führt (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982).

Die Folgen einer Säurebelastung von Waldböden werden von Ulrich vielfach beschrieben. Er schließt auf eine Gefährdung von Waldökosystemen durch zunehmende Basenverarmung (ULRICH 1986; MATZNER u. THOMA 1983; MATZNER u. ULRICH 1984), Entkopplung des Ionenkreislaufes (ULRICH 1986; ULRICH 1981), Schädigung von Feinwurzeln durch Aluminiumtoxizität (ULRICH 1986; MATZNER u. ULRICH 1984; MURACH 1983; ROST-SIEBERT 1983) und dem dadurch bedingten Rückzug des aktiven Feinwurzelsystems in den humusbeeinflussten Oberboden (ULRICH 1986, 1986b).

Die Auswirkungen eines erhöhten Protoneneintrages auf die WOS wird in der Literatur recht unterschiedlich beurteilt. Es wird in diesem Zusammenhang sowohl von einer Erhöhung (MATZNER u. THOMA 1983; KRUG u. ISAACSON 1984), als auch von einer Verringerung (CROWAN 1980; HAY et al. 1985) des Austrages an WOS berichtet. Dieser widersprüchliche Befund findet seine Begründung in der Vielzahl und der unterschiedlichen Qualität der in Verbindung mit der organischen Bodensubstanz ablaufenden Abbau- und Pufferreaktionen. Dementsprechend fanden HOVLAND et al. (1980), daß zu Beginn einer künstlichen Säurebehandlung der Abbau organischer Stoffe gefördert, bei fortgesetzter Belastung dagegen reduziert wird.

Als Therapiemaßnahme und Prophylaxe gegen Bodenversauerung und Waldschäden wird eine groß angelegte "therapeutische" Forstdüngung diskutiert und teilweise auch massiv gefordert (ISERMANN 1983, 1985, 1985b; GLATZEL et al. 1986; ULRICH 1986b). Sinn und Wirkung einer undifferenzierten, großflächigen Düngerausbringung sind im Gegensatz zur "diagnostischen" Düngung zu Recht nicht unumstritten (METTEN 1985; STELUF 1973; KREITZER 1987). Die Auswirkungen einer Kalkung auf Nährelementhaushalt (MATZNER 1985; MAXIM u. MUTTERS 1985; GLATZEL et al. 1986) und Schwermetalle (MATZNER 1985; HAYES u. SWIFT 1985; MAXIM u. MUTTERS 1985) werden nahezu durchgängig positiv beurteilt. Ferner wird der Kalkung besondere Bedeutung bei der Lösung des "Rohhumusproblems" (WITTECH 1952; PLAGMANN 1959; JÖTTNER 1959) und der Sicherung eines wirtschaftlichen Holzzuwachses (LOHWASSER 1959; SCHMID 1959) beigemessen.

Es ist aber dennoch nicht von der Hand zu weisen, daß die Ausbringung von Kalk einen massiven und langfristig wirksamen Eingriff in ein bestehendes Ökosystem darstellt. Ferner ist nach einer Kalkung mit einer "instabilen" Phase zu rechnen, bis sich die im Boden herrschenden biologischen und chemischen Gleichgewichte der neuen Ausgangslage angepaßt haben. Überhöhte Kalkgaben können durch Ionenantagonismen eher negative Auswirkungen mit sich bringen (HAYES u. SWIFT 1985).

Die Reaktion der WOS auf eine praxisübliche Kalkung wurde bisher kaum untersucht. Im Solling wurde beobachtet, daß eine derartige Maßnahme keine signifikante Veränderung im Kohlenstoffvorrat von Waldhöden hervorruft (MATZNER 1985), obwohl im Oberboden ein starker Anstieg der WOS (LAMERSDORF u. KÖNIG 1985) in Verbindung mit einer Zunahme der aktiven mikrobiellen Biomasse (LANG u. BESE 1985) beobachtet werden kann.

1.4. Untersuchungsziele

Aufgrund des in 1.2. und 1.3. dargelegten Kenntnisstandes lassen sich die Untersuchungsziele der vorliegenden Arbeit wie folgt formulieren:

Zur Charakterisierung der WOS im Hinblick auf ökologische Fragestellungen soll eine Reversed-phase-HPLC-Methode zur Erfassung eines "Fingerabdruckes" des Summenparameters "Polarität der WOS" erarbeitet und auf ihre Aussagekraft hin überprüft werden. Anhand dieser Methode soll dann im Rahmen des Höglwaldprojektes der Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf die WOS erfaßt und mit geeigneten statistischen Verfahren ausgewertet werden.

Ferner soll durch begleitende Studien die Bedeutung der WOS in der Bodenlösung in einigen Teilaspekten näher untersucht werden. Ein Schwerpunkt liegt dabei in der Verknüpfung der HPLC-Ergebnisse mit Daten der anorganischen Analytik der Wasserextrakte zur Beurteilung der Komplexbildungseigenschaften der WOS.

2. Probematerial

2.1. Bodenproben

2.1.1. Herkunft

Die Bodenproben wurden auf den Versuchsparzellen des 1984 vom Lehrstuhl für Bodenkunde angelegten Höglwaldprojektes entnommen. Im Rahmen dieses Freilandexperimentes sollen in interdisziplinärer Zusammenarbeit die Auswirkungen von Säureeintrag und kompensatorischer Kalkung auf ein Fichtenwald-Ökosystem möglichst umfassend beobachtet werden.

Am Bestand werden die Parameter Wachstum, Gesundheitszustand und Ernährung erfaßt, ferner wird die Bodenvegetation ökologisch und pflanzensoziologisch untersucht. Neben den Stoffeinträgen durch Niederschlag und Kronentraufe werden die Austräge im Sickerwasser erhoben. Den Schwerpunkt der Untersuchung bilden die bodenkundlichen Aspekte, zu denen neben chemischen, mikrobiologischen, zoologischen und physikalischen Parametern auch die Bodenhydrologie und die Erfassung von Feinwurzeln und Mykorrhizierung gehören. Die Freilanduntersuchungen im Höglwald werden ergänzt durch gezielte Laborexperimente und vergleichende Studien an weiteren bayerischen Standorten.

Für die Anlage der Versuchsflächen wurde im Forstdistrikt "Höglwald" des staatlichen Forstamtes Aichach, Forstdienststelle Ried, ein repräsentativer Fichtenbestand ausgewählt, der sich von Standort, Bestandesgeschichte und Lage gut für eine derartige Untersuchung eignet. Die Standorts- und Bestandsdaten sind bereits eingehend beschrieben (KREUTZER u. BITTERSÖHL 1986; RÖHL 1986), so daß im Rahmen dieser Arbeit nur eine tabellarische Zusammenstellung erfolgt.

Zur Bearbeitung der vorgegebenen Fragestellung wurden sechs Behandlungsvarianten angelegt. Die einzelnen Versuchsparzellen umfassen einen Kernbereich von 900m², der von einem ca. 9m breiten gleichbehandelten Umfassungstreifen umgeben ist. Abb.2.1 zeigt den Aufbau der Versuchsanlage und die Zuordnung der sechs Varianten.

Kenndaten der Versuchsfläche Höglwald

Ort....: Höglwald
 FA Aichach, FDSt Ried, Abteilung 3 5b Ottlerwiese

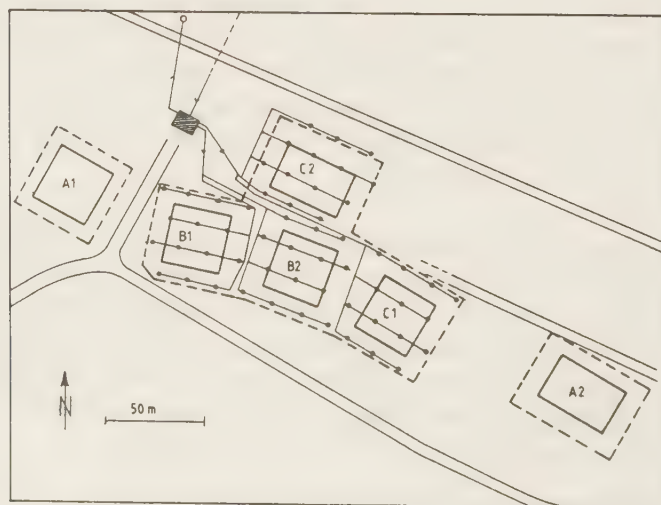
 Lage....: Wuchsbezirk "Oberbayerisches Tertiärhügelland"
 Plateau 540m NN

 Klima...: mittlerer Jahresniederschlag 800 mm
 mittlere Jahrestemperatur 7.3°C

 Boden...: podsolige, im Unterboden schwach pseudovergleyte
 Parabraunerde aus Feinsedimenten der obermiozänen
 Süßwassermolasse; Humusform Moder

 Bestand: sehr wüchsiger, geschlossener Fichtenreinbestand,
 79 jährig, 2. Generation nach einem der natürlich
 potentiellen Vegetation entsprechenden Laubwald
 (vornehmlich Buche)

Abb.2.1: Versuchsanlage des Beregnungs- u. Kalkungsexperimentes Höglwald; Parzellenplan mit Beregnungsanlage



A1	keine Behandlung	A2	Kalkung
B1	saure Beregnung	B2	saure Beregnung + Kalkung
C1	normale Beregnung	C2	normale Beregnung + Kalkung

Die saure Beregnung erfolgt mit einem pH von 2.7 bis 2.8 durch Ansäuerung mit Schwefelsäure. Dabei werden pro Jahr in 15-18 Einzelberegnungen ca. 170mm Wasser ausgebracht, was einem Protoneneintrag von 3-4kmol pro ha und Jahr entspricht.

Die Ausbringung der "normalen" Beregnung erfolgt entsprechend, wobei ein dem Bestandesniederschlag nachempfundenes Wasser vom pH 5.5 verwendet wird.

Als Kalkung wurde zu Beginn des Versuches eine praxisübliche oberflächige Anwendung von 40dt/ha feingemahlenem Dolomit durchgeführt, was eine Zufuhr von 881kg Ca/ha bedeutet (STMELF 1973; GUSSONE et al. 1985). Die Kalkung erfolgte als einmalige Ausbringung im April 1984, die Beregnungsbehandlungen werden jedes Jahr in der Zeit von Mai bis Oktober durchgeführt. Die Einbeziehung einer Normalwasserberegnung in das Versuchskonzept war notwendig, um die Einflüsse des zusätzlichen Wasserangebotes von den eigentlichen Säureauswirkungen unterscheiden zu können.

2.1.2. Probenahme

Pro Behandlungsvariante (siehe 2.1.1.) wurden 12 Probenahmepunkte ausgeschieden und dauerhaft markiert. Je sechs Punkte wurden in der Nähe des Stammfußes und sechs Punkte auf Flächen zwischen zwei Bäumen angelegt. Diese Unterscheidung von "baumnah" und "Zwischenfläche" soll der durch die Fichtenbestockung bedingten Inhomogenität der Versuchsflächen in gewissem Umfang gerecht werden.

Die Probenahme erfolgt im Oberboden mittels Stechrahmen (10 mal 10cm). Dabei werden die Horizonte L+Of1, Of2 und Oh getrennt entnommen und ihre durchschnittliche Mächtigkeit bestimmt. Für den Ah-Horizont wurde die Tiefenstufe 0-5cm gewählt, da im Gelände keine genaue Abgrenzung dieses Horizontes vorgenommen werden kann. Die Entnahme der Bodenproben aus 10-20cm und 30-40cm Tiefe erfolgt mit einem Bohrstock.

Die Bezeichnung und Ansprache der einzelnen Bodenhorizonte wird gemäß den üblichen Konventionen vorgenommen (SCHÉPPER/SCHACHTSCHABEL 1982) (vgl. 2.1.3.). Die Auftrennung der Of-Lage in Of1 und Of2 erfolgt aufgrund der Mächtigkeit dieses Horizontes und der guten morphologischen Unterscheidbarkeit der beiden Lagen im Gelände.

Die Entnahme von Bodenproben im Rahmen eines Freilandversuches muß sowohl der zeitlichen als auch der räumlichen Variabilität eines natürlichen Systemes Rechnung tragen, um eine für den jeweiligen Standort bzw. eine einzelne Versuchsparzelle repräsentative Aussage zu erhalten.

Die Erfassung der zeitlichen Variation erfolgt durch wiederholte Probenahmen, wobei für die vorliegende Untersuchung ein Turnus von ca. 4 Wochen in der Zeit von Ende April bis Anfang November eingehalten wird. Dabei werden im Wechsel Zwischenflächen- und baumnahe Probenahmepunkte bearbeitet. Kleinstandörtliche Inhomogenitäten werden durch die horizontweise Bildung von Mischproben aus den je sechs Proben gleichen Baumabstandes egalisiert.

2.1.3. Allgemeine Probenbeschreibung

Die Profilbeschreibung des Standortes Höglwald und die wichtigsten bodenchemischen und bodenphysikalischen Daten sind in Tab.2.1 u. Tab.2.2 zusammengefaßt. Aus diesen Daten geht hervor, daß im Höglwald ein gutes potentiell Wurzelwachstum bei einem hohen Anteil pflanzenverfügbaren Wassers gegeben ist. Im Bereich der Hauptwurzelzone (0-50cm) zeigt sich eine Verarmung an Ca und Mg, sowie ein verstärktes Auftreten von Al. Die Sonderstellung dieses Bodenbereiches zeigt sich auch in den bodenphysikalischen Daten wie Porenvolumen und Raumgewicht.

Die auffälligsten morphologischen Unterschiede der einzelnen Versuchspartzen zeigen sich in der Bodenvegetation. Nach dreijähriger Versuchszeit ergeben sich zwar keine grundlegenden Veränderungen in der Artenzusammensetzung der Versuchsfächen, bestehend aus Sauerklee (*Oxalis acetosella*), Fichtensämlingen, diversen Moosarten und sporadisch auftretenden Gräsern, jedoch zeigen manche Arten Reaktionen auf einzelne Behandlungsvarianten. Typisch ist die Schädigung bestimmter Moose durch die saure Beregnung auf den Flächen B1 und B2, die zum Teil eine flächenhafte Gelb-Braunfärbung bewirkt. Am markantesten jedoch ist die Reaktion von *Oxalis* auf die Kombination Kalk + Wasser (Flächen B2; C2), die zu einer starken Förderung dieser Art und zur Ausbildung eines nahezu flächendeckenden Sauerkleebewuchses führt. (vgl. RODENKIRCHEN 1986)

Tab.2.1: Allgemeine Profilbeschreibung des Standortes Höglwald

L	0.5-0	lockere, frische Nadelstreu
Of ₁	2-0.5	schwach zersetzte Nadelstreu, schwach vernetzt, locker
Of ₂	2-5	teilweise zersetzte Nadelstreu, Pilzhypen, schwach verfilzt und schichtig
Ob	7-5	grauschwarz, Feinhumus > 70%
A _{eb}	0-5	schwach violettbraun, mittel humos, schwach sandiger Lehm, Krümelgefüge, offen, lose, sehr stark durchwurzelt, teilweise wellige, unscharfe Grenze
A _{1b}	5-10	braungrau, schwach humos, schwach sandiger Lehm, krümelig-subpolyedrisch, sehr fein bis fein, offen, lose, stark durchwurzelt, allmählicher Übergang, teilweise unscharfe Grenze
B _v A ₁	10-36	hellbraungrau, sehr schwach humos, schwach sandiger Lehm, ab 30 cm schwach sandiger schluffiger Lehm, krümelig-subpolyedrisch, fein, offen, lose, im oberen Teil stark durchwurzelt, wenige, kleine Fe- und Mn-Konkretionen, Grenze unscharf
B _v	36-65	braun, schwach toniger Lehm, ab 50 cm: schwach sandiger Lehm bis schwach toniger Lehm, subpolyedrisch bis schwach prismatisch, mittlere Größe, halboffen, mittel verfestigt, durchwurzelt, Tönhäutchen auf Aggregatoberflächen, wenig Fe-, Mn-Konkretionen, Grenze unscharf
B _v	70-130	schwach graubraun, sandiglehmiger Schluff, subpolyedrisch, sehr fein bis fein, halboffen, lose, sehr schwach durchwurzelt, einzelne Tönhäutchen, schwache Rostfleckung mittlerer Größe
C _v B _v	130-170	braungrau und grau, stark schluffiger Sand, Einzelkornggefüge, Bänderung, sehr schwach durchwurzelt
C _v	170-200	grau, stark schluffiger Sand, Einzelkornggefüge, schwache Rostfleckung geringer Größe, keine Wurzeln

Tab.2.2: Bodendaten Höglwald (KREUTZER u. BITTERSÖHL 1986)

Tiefe	Körnung in % der humus- und karbonatfreien Feinerde								Ton
	Sand				Schluff				
cm	g	m	f	Σ	g	m	f	Σ	
LOf									
Oh									
0- 5	1	9	25	35	22	15	9	46	19
5- 10	1	10	25	36	21	16	7	43	21
10- 20	0	10	26	36	22	14	10	46	18
20- 30	0	11	22	33	21	15	9	45	22
30- 40	0	7	21	29	20	14	17	51	20
40- 50	0	8	24	32	18	13	7	38	30
50- 70	0	1	25	26	27	13	8	48	26
70-130	0	0	29	29	29	16	11	56	15
130-170	0	2	48	48	32	11	3	46	6
170-190	0	3	48	48	27	11	6	45	7

Tiefe	Raum- gewicht g/cm ³	GPV %	Wassergehalt in % bei pF				pH		Corg %	Nt mg/g
			0.6	1.8	2.5	4.2	H ₂ O	CaCl ₂		
LOf							3,95	3,20	49,0	17,6
Oh							3,58	2,91	40,0	15,5
0- 5	0,84	72	63,4	46,4	33,1	12,8	3,72	3,20	2,8	1,5
5- 10	1,22	55,3	53,6	38,2	29,4	15,0	3,96	3,62	1,3	0,9
10- 20	1,18	55,0	54,0	36,2	26,6	15,5	4,21	3,96	0,9	0,7
20- 30	1,40	48,7	44,0	36,1	28,9	22,9	4,20	3,95	0,5	0,6
30- 40	1,41	47,8	39,8	35,8	31,6	23,5	4,18	3,83	0,3	0,5
40- 50	1,50	47,9	42,6	39,2	35,7	25,8	4,20	3,77	0,3	0,4
50- 70	1,54	44,6	41,3	38,6	35,5	26,1	4,65	3,92	0,2	0,4
70-130	1,43	49,8	46,3	43,6	37,5	21,7	4,92	4,13	0,1	0,3
130-170	1,36	52,7	50,2	47,3	37,1	12,8	4,95	4,18	0,1	0,2
170-190	1,35	53,5	54,8	50,2	34,2	10,8	5,30	4,45	0,1	0,2

Tiefe	C:N	KAK		Ca	K	Austauschbare Kationen			Al	Fe	V %
		pot. meq/kg	akt. meq/kg			Mg meq/kg	Na	H			
LOf	28	n.d.	190	134,9	7,9	13,9	n.d.	26,2	7,3	n.d.	82
Oh	26	973	131	22,1	4,6	3,8	n.d.	28,9	70,9	0,35	23
0- 5	15	180	87	3,0	0,5	1,4	n.d.	9,4	68,7	3,5	6
5- 10	14	97	55	0,9	n.d.	0,8	0,4	3,4	49,3	n.d.	4
10- 20	13	69	41	0,4	1,0	0,5	0,4	1,1	37,1	n.d.	6
20- 30	9	67	49	0,6	n.d.	0,5	n.d.	1,1	46,6	n.d.	2
30- 40	6	100	69	0,8	0,5	0,8	n.d.	2,0	64,3	n.d.	3
40- 50	7	152	125	2,1	n.d.	1,9	n.d.	1,7	118,5	n.d.	3
50- 70	6	150	124	14,1	n.d.	15,4	n.d.	1,9	91,5	n.d.	24
70-130	5	145	120	37,6	0,5	25,8	0,3	3,4	51,5	n.d.	24
130-170	4	52	43	17,5	n.d.	9,2	n.d.	2,0	14,7	n.d.	62
170-190	4	60	50	26,6	n.d.	12,3	n.d.	1,9	8,7	n.d.	78

Ein weiterer morphologisch sichtbarer Behandlungseffekt ist die Regenwurmtätigkeit. Während auf den ungekalkten Versuchspartzen keine Aktivität beobachtet werden kann, zeigt sich diese auf den gekalkten Varianten durch das vermehrte Auftreten von Losungshäufchen an der Bodenoberfläche (MAKESCHN persönl. Mitteilung). Diese, vor allem auf der B2-Fläche stark erhöhte Bioturbation und die damit verbundene Durchmischung von Mineralboden und Auflage erschwert mit zunehmender Versuchsdauer eine exakte Horizontierung bei der Probenahme.

2.2. Wässriger Probenextrakt

2.2.1. Gewinnung des Bodenextraktes

Zur Gewinnung eines wässrigen Bodenextraktes, der die natürlichen Verhältnisse in der Bodenlösung möglichst gut widerspiegeln soll, werden in der Literatur mehrere Verfahren genannt. Als gängige Methoden seien hier die Ultrazentrifugation (KINIBURGH u. MOLES 1983), die Perkolation ungestörter Bodensäulen (HILDBRAND 1986) und die Gewinnung einer Gleichgewichtsbodenlösung (MEIWES et al. 1984) aufgeführt. Aufgrund der zu bearbeitenden Fragestellung und der Handhabbarkeit im Routinebetrieb kommt in unseren Untersuchungen eine Modifikation des letztgenannten Verfahrens zum Einsatz.

Am Tag der Probenahme werden die gewonnenen Horizonte von Hand homogenisiert, grobe Wurzelteile entfernt und die Feuchtigkeit ermittelt. Durch entsprechende Zugabe von demineralisiertem Wasser werden folgende Gesamtwassergehalte eingestellt:

L+Of1, Of2	100g Trockenboden	+ 1000 g Wasser
Oh	100g - " -	+ 400 g - " -
Mineralboden	100g - " -	+ 130 g - " -

Unter gelegentlichem leichten Umrühren (die Bodenaggregate sollen möglichst erhalten bleiben) werden die so angesetzten Bodenproben 20 Stunden stehen gelassen. Anschließend wird bei 3000U/min zentrifugiert, die überstehende Lösung membranfiltriert (0.45µm) und bei 6°C im Dunkeln aufbewahrt.

Das unterschiedliche Boden-Wasser-Verhältnis für die einzelnen Bodenhorizonte ist durch die verschiedene Wasseraufnahmefähigkeit des Materials und der Notwendigkeit begründet, für die nachfolgende Analytik genügend Extrakt zur Verfügung zu stellen. Die sich dadurch ergebenden unterschiedlichen Verdünnungseffekte machen Tiefenvergleiche a priori nur bedingt möglich. Exemplarisch durchgeführte Umrechnungen von gemessenen Konzentrationen [mol/l] in flächenbezogene Gehalte [mol/(m²·cm)] zeigen jedoch, daß der qualitative Verlauf von Tiefenfunktionen erhalten bleibt.

Speziell für die Extraktion von organischen Bodeneinhaltsstoffen sind in der Literatur eine große Anzahl von Extraktionsmitteln beschrieben (PORTER 1967; HAYES et al. 1975; POSNER 1966). Da in dieser Arbeit aber großer Wert auf die Erfassung naturnaher Verhältnisse gelegt wird, wird auf die Anwendung anderer Extraktionsmittel als Wasser verzichtet.

2.2.2. Charakterisierung der Extrakte

Da durch die unterschiedlichen Varianten der experimentellen Behandlung eine allgemeine Charakterisierung der Wassereextrakte nicht möglich ist, soll an dieser Stelle eine Beschreibung der auf der Kontrollfläche erhaltenen Extrakte erfolgen.

Je nach C-Gehalt ergeben sich wasserklare bis rötlich-gelb gefärbte Lösungen. Für alle Bodenhorizonte liegen die mittleren pH-Werte im Bereich von 3.4 bis 4.3 und die mittlere Kationensumme in der Größenordnung von 0.76 bis 1.26mval/l. In den Auflagehorizonten liegen die C-Gehalte durchschnittlich bei 250mg/l. Im Mineralboden nehmen die Gehalte von ca. 110mg/l im Ah auf ca. 5mg/l in 30-40cm Tiefe ab.

Die Haltbarkeit der Extrakte ist abhängig vom C-Gehalt und der ionaren Zusammensetzung. Die größte Tendenz zur Ausflockung und Mikroorganismen-tätigkeit besitzen die Auflageextrakte der gekalkten Versuchsparzellen. Sie sind nur ca. eine Woche ohne sichtbare Veränderungen lagerfähig. Dagegen sind alle Mineralbodenproben unter den genannten Bedingungen länger als einen Monat stabil.

3. Charakterisierung der WOS mit Hilfe der RP-HPLC

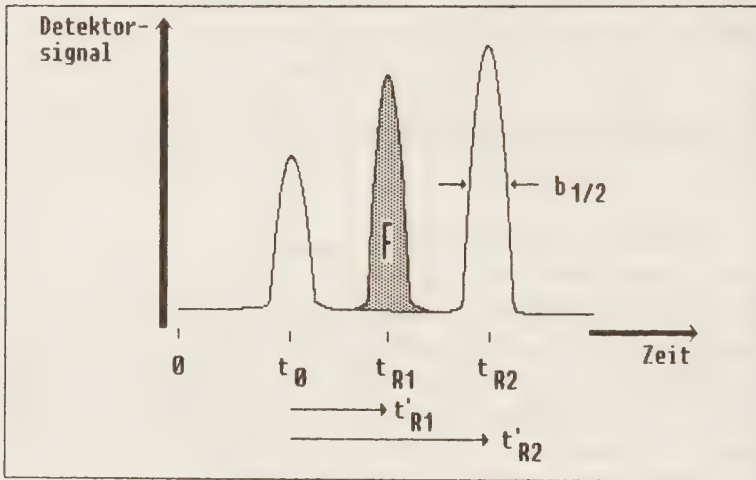
3.1. Theoretische Grundlagen der Methode

3.1.1. Grundlagen der Chromatographie (ENGELHARDT 1977)

Die chromatographischen Trennmethode n beruhen auf der Verteilung der Einzelkomponenten eines zu trennenden Substanzgemisches zwischen zwei nicht mischbaren Phasen. Man benutzt dabei stets eine stationäre, d.h. unbewegliche Phase, die von einer mobilen, d.h. beweglichen Phase durchströmt wird. Während eines chromatographischen Laufes sind die einzelnen Komponenten stets den Verteilungs- und Adsorptionsgleichgewichten zwischen den beiden Phasen unterworfen, d.h. sie werden je nach ihrem Charakter und den chromatographischen Eigenschaften der stationären Phase verschieden stark zurückgehalten, so daß sie das Trennmedium mit unterschiedlicher Geschwindigkeit passieren.

In Abb.3.1 ist das idealisierte Chromatogramm einer modernen Säulenchromatographie dargestellt. Es zeigt die einer Gaußkurve gehorchende Elution einer nicht zurückgehaltenen und zweier retardierter Substanzen. Wenn alle Randbedingungen (Temperatur, Trennmedium, Fluß der mobilen Phase etc.) konstant gehalten werden, sind die eingetragenen Größen für die einzelnen Substanzen und das verwendete Trennsystem reproduzierbare Charakteristika.

Abb.3.1: Kenngrößen eines idealisierten Chromatogrammes



- t_0 Totzeit des Systems
(Zeit, die eine Substanz benötigt, welche von der stationären Phase nicht zurückgehalten wird)
- t_{R1}, t_{R2} Retentionszeiten der einzelnen Komponenten
(Zeit, die retardierte Substanzen von der Probeaufgabe bis zur Detektion benötigen)
- t'_{R1}, t'_{R2} Zeit, während der die Komponenten 1 und 2 auf der stationären Phase zurückgehalten werden
- $b_{1/2}$ Halbwertsbreite des Detektorsignals
(aus $b_{1/2}$ läßt sich die Trennleistung der Säule berechnen)
- F Fläche unter dem Detektorsignal; sie ist direkt proportional zur Substanzmenge

3.1.2. Chromatographische Methoden zur Charakterisierung organischer Bodeninhaltsstoffe

Da die organischen Bodeninhaltsstoffe ein Gemisch aus Humusstoffen und deren Ausgangs- und Abbauprodukten darstellen, bieten sich die chromatographischen Trennmethode zur Separierung und Charakterisierung einzelner Substanzklassen an. Dabei kamen bisher vor allem gelchromatographische Methoden zur Molekülgrößen-Fraktionierung von Huminstoffen zum Einsatz (TSUTSUKI u. KUWATSUKA 1984; SWIFT u. POSNER 1971; TAN 1977; DAWSON et al. 1981). Bestimmte Stoffgruppen ließen sich erst nach entsprechender Probenvorbereitung chromatographisch bearbeiten. So konnten z.B. Aminosäuren mit Papierchromatographie (PIPER u. POSNER 1968), Zucker mit Gaschromatographie (SWIFT u. PERDUE 1982) und Phenole vor allem mit Flüssigkeitschromatographie (KÖGEL 1983; HARTLEY u. BUCHAN 1979) analysiert werden.

Während die Untersuchung niedermolekularer Bodeninhaltsstoffe bzw. von Produkten des chemischen Huminstoffabbaus zu befriedigenden Ergebnissen führt, sind Aussagen über das Verhalten höhermolekularer Stoffgruppen und deren Wechselwirkung mit der restlichen organischen und anorganischen Bodensubstanz nur schwer zu erhalten. Dies zeigt sich vor allem bei den gelchromatographischen Studien, deren Ergebnisse stark von der aufgegebenen Probenmenge (SWIFT u. POSNER 1971), der Ionenstärke der mobilen Phase (TSUTSUKI u. KUWATSUKA 1984) und der verwendeten Kalibrierungssubstanz (CAMERON et al. 1972) abhängen.

Trotz der Schwierigkeiten, die bei der Untersuchung naturbelassener Wasserextrakte auf organische Inhaltsstoffe zu erwarten sind, sollte im Rahmen des Höglwaldprojektes eine chromatographische Methode zur Charakterisierung und Klassifizierung der im Bodenwasser vorkommenden organischen Substanz eingeführt werden. Ein geeignetes Trennsystem schien uns die Reversed-phase Hochdruckflüssigkeitschromatographie (RP-HPLC), d.h. die Chromatographie an Umkehrphasen zu sein. Diese Methode bietet viele Möglichkeiten zur Optimierung der Auftrennung und deckt einen großen Polaritätsbereich der zu untersuchenden Substanzen ab. Geräte und Trennmethode werden im folgenden näher beschrieben.

3.1.3. Grundlagen der Reversed-phase-HPLC (ENGELHARDT 1977)

Bei der Reversed-phase Chromatographie wird als stationäre Phase ein chemisch modifiziertes Kieselgel eingesetzt, dessen Oberfläche durch organische Kohlenstoffketten, meist Octadecylgruppen (C18), hydrophobe Eigenschaften erhält. Aufgrund dieser Oberflächeneigenschaft werden Substanzen geringerer Polarität stärker von der stationären Phase zurückgehalten als Stoffe mit mehr hydrophilen Eigenschaften.

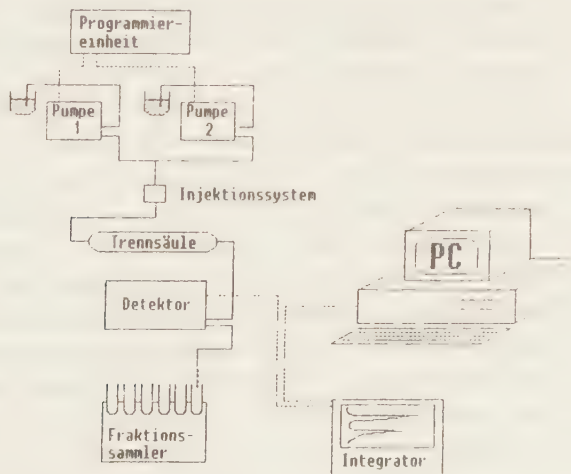
Um während eines einzigen chromatographischen Laufes sowohl stark polare, als auch weniger hydrophile Substanzen von der Säule zu eluieren, wird ein Gradientensystem eingesetzt. Dabei wird zur wässrigen mobilen Phase allmählich ein höher werdender Anteil eines organischen Lösungsmittels (Methanol, Acetonitril ect.) zudosiert. Dadurch werden die Adsorptions- und Verteilungsgleichgewichte auch der weniger polaren Substanzen wieder in Richtung mobile Phase verschoben. Damit bei der Injektion der nächsten Probe wieder identische Ausgangsbedingungen herrschen, muß nach erfolgter Trennung die stationäre Phase wieder mit dem wässrigen Lösungsmittel equilibriert werden. Die Zusammensetzung der mobilen Phase in Abhängigkeit von der Analysenzeit wird Gradientenprofil genannt.

3.2. Geräte

Für die chromatographischen Untersuchungen kam ein Gradienten-HPLC-System der Firma Waters zum Einsatz, welches von uns um einige Komponenten erweitert wurde. Der schematische Aufbau der Anlage ist in Abb.4.2 dargestellt; es sind folgende Systemkomponenten vorhanden:

Förderung der mobilen Phase	2 Pumpen Waters M45 Programmiereinheit Waters 680
Injektionssystem	Waters U6K (Einspritzmenge 50µl, wenn nicht anders vermerkt)
Trennsäule	µBondaPak C18, Novapak C18 Vorsäule (µCorasil)
Detektion	variabler UV-Detektor Waters 481
Schreiber, Integrator	Shimadzu CR3A mit RS232-Interface Basic programmierbar
Probensammler	Pharmacia FRAC 100
Datenverarbeitung	Commodore PC NEC APC-III für Photodiodenarray- Auswertung

Abb.3.2: Schematischer Aufbau der Gradienten-HPLC-Anlage



3.3. Versuche zur Optimierung der Methode

Unter einer chromatographischen Trennmethode ist eine zur optimalen Lösung eines vorgegebenen Trennproblems geeignete Auswahl von Proben-vorbereitung, mobiler Phase, stationärer Phase und Detektionsmethode zu verstehen. Deshalb ist die Ausarbeitung einer Trennmethode nicht nur von den zu bearbeitenden chemischen Substanzklassen, sondern auch entscheidend von der allgemeinen Fragestellung bestimmt.

3.3.1. Auswahl des geeigneten Trennsystems; Säulenvergleiche

Das Angebot an stationären Phasen für die Reversed-phase Chromatographie ist äußerst vielfältig, da sowohl von Seiten des verwendeten Kieselgels, als auch durch die organische Oberflächenmodifizierung zahlreiche Variationsmöglichkeiten bestehen. Ebenso vielfältig sind die Möglichkeiten zur Variation des verwendeten Lösungsmittelgradienten.

Das Ziel jeder Methodenoptimierung ist es, eine optimale Trennung bei guter Reproduzierbarkeit zu erhalten. Ein weiteres wichtiges Kriterium, vor allem bei Routineuntersuchungen, ist die Vermeidung irreversibler Adsorptionsvorgänge auf der Säule, um eine hohe Standzeit des Trennsystems und damit eine kostengünstige Methode zu erreichen. Im folgenden sollen die wesentlichen Entscheidungsschritte bei der Auswahl eines geeigneten Trennsystems erläutert werden.

Nach bisheriger Erfahrung (HARTLEY u. BUCHAN 1979; TURKELSON u. RICHARDS 1978; SEGFRED et al. 1984; NAGELS et al. 1985; KOGEL 1983) ist es von Vorteil das wässrige Laufmittel anzusäuern, um dissoziierte Gruppen zu protonieren und damit deren Retentionsverhalten auf der Säule zu verbessern. Ein ähnlicher Effekt kann auch durch die Verwendung von Ionenpaar-reagentien erreicht werden. Aus diesem Grund wurden Testserien mit H_2O , H_3PO_4 (pH 3.5), HOAc (pH 4.0) und den Ionenpaarreagentien PIC A, PIC B, PIC C, PIC D (PIC= Ionenpaarreagentien der Fa. Waters) als wässriges Laufmittel und MeOH , CH_3CN , DMF und i-Propanol als organische Komponente durchgeführt.

Gute Auftrennungen werden mit Phosphorsäure und Essigsäure als wässrigem Eluens erzielt. Die Verwendung von Ionenpaarreagentien erbringt keine Verbesserung des Ergebnisses. Da Essigsäure korrodierend auf die Stahlkapillaren der HPLC-Anlage einwirken kann, wird für die Routineanalyse H_3PO_4 (pH 3.5) bevorzugt. Bei den organischen Lösungsmitteln scheiden i-Propanol und DMF wegen des durch ihre Viskosität bedingten hohen Gegendrucks aus. Da Acetonitril, wie auch in der Literatur beschrieben (CHANG 1986), eine höhere Spektrenauflösung erzielt als Methanol, wird in der Routine ein Gradient von H_3PO_4 (pH 3.5) nach CH_3CN eingesetzt (Gradientenprofil siehe Abb.3.7).

Bei den getesteten Säulen wurde versucht die breite Vielfalt der angebotenen Trennmaterialien abzudecken. Dabei wurden die Teilchengröße, die Art und die Porosität des verwendeten Kieselgels, sowie dessen chemische Modifizierung variiert. Ferner wurde ein Reversed-phase-Material auf Polymerbasis (PLRP) getestet. Tab.3.1 enthält eine Auflistung der getesteten Säulen und deren Charakteristika.

Tab.3.1: Charakteristika der getesteten RP-Säulen

Vertrieb	Bezeichnung	Material			
Waters	μ Bondapak C18	Kieselgel	C18	10 μ	120A
Waters	Novapak C18	Kieselgel	C18	4 μ	80A
Waters	Resolve C18	Kieselgel	C18	5 μ	90A
Waters	μ Bondapak Phenyl	Kieselgel	Phenyl	10 μ	120A
Kontron	Spherisorb Hexyl	Kieselgel	C6	5 μ	80A
Machery	MN 300-7 C18	Kieselgel	C18	7 μ	300A
Kontron	Aquapore RP300	Kieselgel	C18	7 μ	300A
Latek	PLRP-S 300	Polystyrolcopolymer 8 μ 300A			

Es zeigt sich, daß die oben aufgeführten stationären Phasen das gestellte Trennproblem ähnlich erfolgreich lösen. Größere Unterschiede gibt es in der Feinauflösung der Spektren und der Standzeit der einzelnen Säulen. Dabei fallen besonders die Materialien Spherisorb und MN 300-7 C18 mit einem baldigen Verschleiß und das PLRP-, Resolve- und Aquapore-Material mit einer etwas geringeren Auflösung auf. Die Reproduzierbarkeit aller getesteten Säulen ist bei fünfmaliger Aufgabe der gleichen Probe mit einer Standardabweichung von 2 bis 7% durchweg gut. Aufgrund dieser umfangreichen Testserie werden die Materialien μ Bondapak C18 und Nova-

pak C18 für die Routineuntersuchungen ausgewählt, da sie neben einer guten Auflösung vor allem eine sehr hohe Standzeit aufweisen. Im Reproduzierbarkeitstest erbringen diese Materialien eine Standardabweichung von 3 bis 7%. Im Aufstockungstest, bei dem die gleiche Probe in immer höherer Konzentration aufgegeben wird, beträgt die Standardabweichung 1 bis 4%.

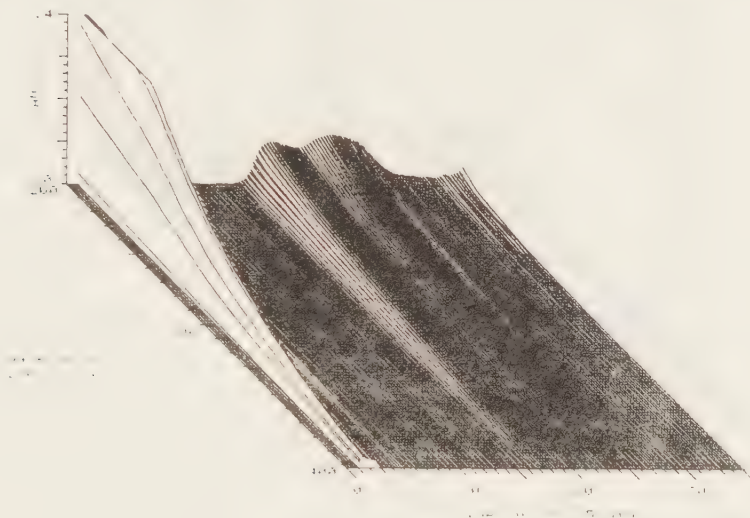
3.3.2. Wellenlängenabhängigkeit von WOS-HPLC-Spektren

Für die Untersuchung der Wellenlängenabhängigkeit von WOS-Spektren stand leihweise ein Photodiodenarray-Detektor mit der dazugehörenden Datenauswertung zur Verfügung (Waters Photodiodenarray 990 + NEC APC-III Personal Computer). Mit diesem Detektor ist es möglich, in hoher zeitlicher Auflösung in einem vorgegebenen Wellenlängenbereich vollständige UV-Spektren des Säuleneluates zu erhalten.

Abb.3.3 zeigt die UV-Absorption eines Wasserextraktes im Bereich 200-400nm in Abhängigkeit der Retentionszeit. Auffällig ist, daß die UV-Spektren während des gesamten chromatographischen Laufes keine ausgesprochenen Absorptionsmaxima zeigen. Dies entspricht den Beobachtungen in der Literatur (CHANG 1986; STEVENSON 1982), wo für Fulvo- und Huminsäuren stets schwach bis nicht strukturierte UV-Spektren erhalten werden.

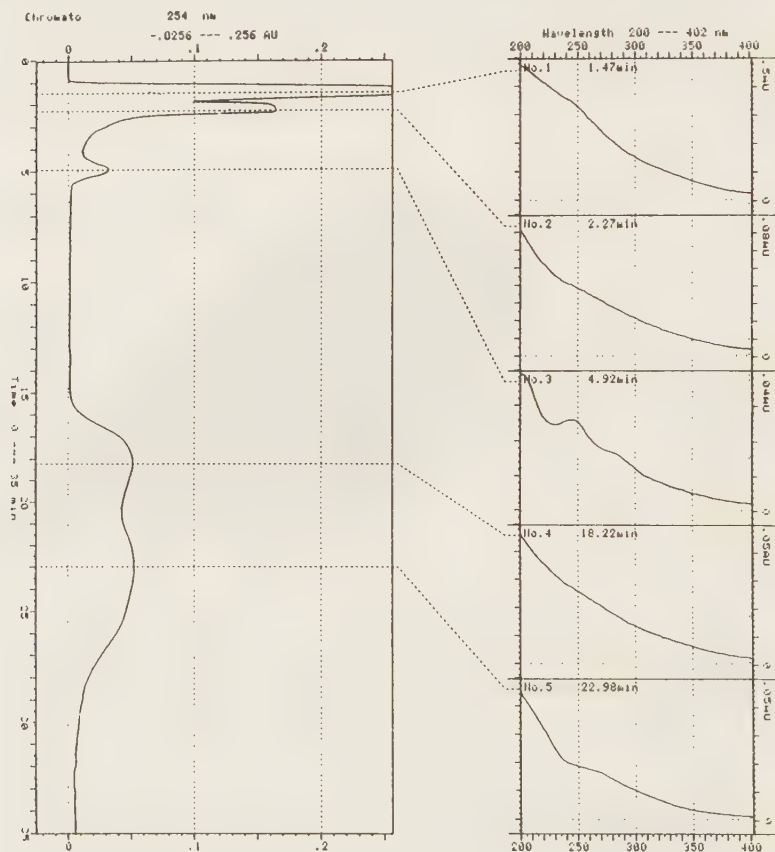
Eine genauere Analyse des Chromatogrammes zeigt (Abb.3.4), daß lediglich aus dem UV-Spektrum des Absorptionssignals bei $RT=4.92\text{min}$ gewisse Rückschlüsse auf die Struktur der zugrundeliegenden Substanz gezogen werden können. Das deutliche UV-Maximum bei 245nm und die Schulter bei 285nm deuten auf ein mit einem einfachen π -System in Verbindung stehenden aromatischen Ring hin. Für die Systeme  bzw.  liegen der erlaubte und der verbotene π -Übergang in vergleichbaren Wellenlängenbereichen (HASSE/MEIER/ZIEH 1979).

Abb.3.3: 3D-Chromatogramm (Detektorsignal in Abhängigkeit von Retentionszeit und Wellenlänge) eines Wasserextraktes aus dem Lof1-Horizont der A2-Fläche



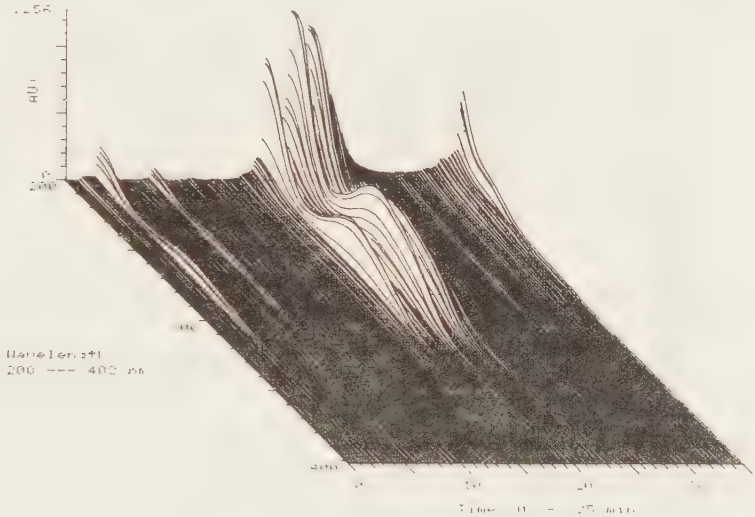
Der Vergleich mit einer Reihe von Referenzsubstanzen erbringt, daß die unbekannte Substanz sowohl in ihrer Polarität als auch in ihrem π -Elektronensystem große Ähnlichkeiten mit Gallussäure ($RT=3.75\text{min}$; UV $\pi \rightarrow \pi^*$ 247nm (erlaubt), 283nm (verboten)) besitzt. Diese Verbindung wurde bereits von mehreren Autoren im Boden nachgewiesen (KÖGEL u. ZECH 1985; KÖGEL 1983; MARTIN u. HADDER 1971; KUWATSUKA u. SHINDO 1973). Die übrigen UV-Spektren von Abb.3.4 lassen keine weiteren Schlüsse auf einzelne Substanzklassen zu. Es läßt sich lediglich feststellen, daß im Bereich der weniger polaren Verbindungen mit zunehmender Retentionszeit aufgrund der Schulter bei 270nm ein etwas höherer aromatischer Charakter abzuleiten ist.

Abb.3.4: UV-Analyse des Chromatogrammes aus Abb.3.3; UV-Spektren der Peakmaxima



Als Vergleich zum 3D-Chromatogramm des Wasserextraktes aus dem LOF1-Horizont der A2-Fläche zeigt Abb.3.5 das entsprechende 3D-Chromatogramm einer Probe des Gerbstoffes Tannin (Fluka Nr.48811). Man sieht deutlich die für die phenolischen Bausteine dieses Naturstoffes, vorwiegend Gallussäurederivate (FREUDENBERG 1933; RIBERAU-GAYON 1972), typischen Absorptionsmaxima im Bereich um 280nm.

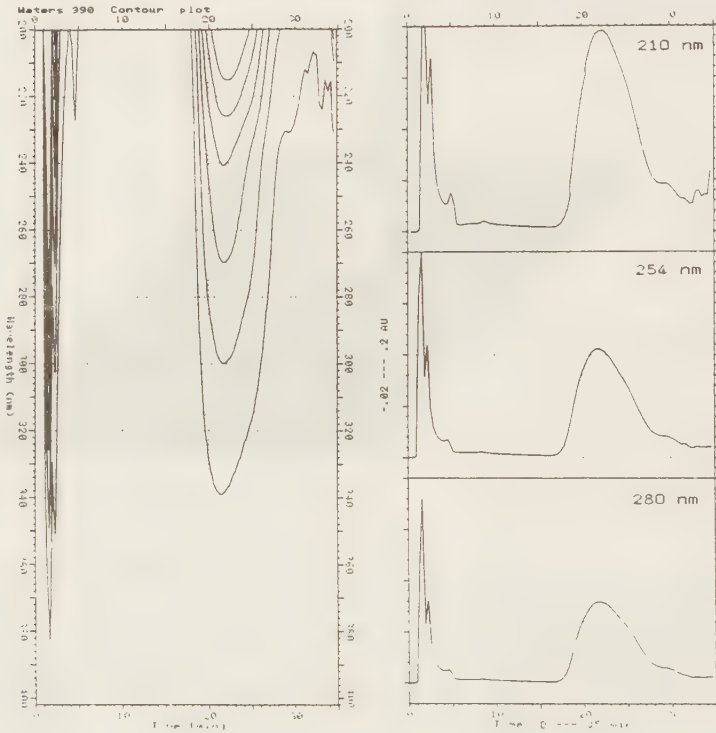
Abb.3.5: 3D-Chromatogramm von Tannin



Aus den Abb.3.3 bis 3.5 geht hervor, daß die im Wasserextrakt gelösten organischen Substanzen, im Gegensatz zu Tannin, keinen ausgeprägten phenolischen Charakter haben. Dies steht im Einklang mit neueren ^{13}C -NMR-spektroskopischen Untersuchungen die, in gewissem Gegensatz zur Polyphenoltheorie (STEVENSON 1982, FLAG et al. 1975), nur einen Anteil aromatischer C-Atome von 7% für Huminstoffe aus Wässern und von 31% für terrestrische Huminstoffe angeben (WILSON 1981).

Das eigentliche Ziel dieser Tests war jedoch, die richtige Detektionswellenlänge für die anstehenden Routineuntersuchungen zu finden. Wie aus dem Höhenliniendiagramm und den drei HPLC-Spektren der Abb.3.6 hervorgeht, verändert sich mit zunehmender Detektionswellenlänge nur die Intensität, nicht aber die Struktur der Spektren.

Abb.3.6: Wellenlängenabhängigkeit der HPLC-Spektren; Höhenliniendarstellung eines 3D-Chromatogrammes aus dem Of2-Horizont der A2-Fläche und Abbildung der daraus abzuleitenden Spektren bei 210, 254 u. 280nm



Da sich die erhaltenen WOS-Chromatogramme mit variierender Wellenlänge in ihrer Struktur nur unwesentlich ändern und phenolische Einheiten ein Absorptionsmaximum bei ca. 280nm aufweisen, wird diese Wellenlänge als Arbeitswellenlänge der Routineuntersuchung ausgewählt.

Wie Tab.3.2 zeigt, sind innerhalb eines Tiefenprofils keine substantiellen Veränderungen im Verhältnis der Gesamtintegrale im Bereich von 220 bis 320nm zu erwarten. Die Ergebnisse der numerischen Peakflächenauswertung sind zwar in ihrer absoluten Größe von der Detektionswellenlänge abhängig, werden in ihrem Verhältnis zueinander dagegen nur wenig beeinflusst.

Tab.3.2: Verhältnisse der Gesamtintegrale im Tiefenprofil in Abhängigkeit von der Detektionswellenlänge (Lof=1)

nm	Lof	Oh	10-20	30-40
220	1.00	0.36	0.07	0.02
254	1.00	0.23	0.03	0.00
280	1.00	0.42	0.03	0.02
320	1.00	0.32	0.03	0.02

3.3.3. Entwicklung eines Routineverfahrens zur semiquantitativen Auswertung der Chromatogramme

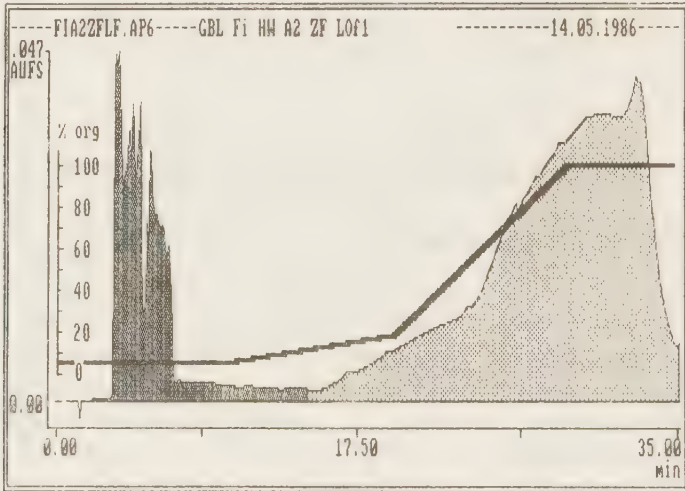
Bei Chromatogrammen in denen Einzelsubstanzen als separierte Absorptionssignale aufgelöst werden, ist die Fläche unter dem Absorptionspeak direkt proportional zur Substanzmenge. Es ist somit möglich, anhand von Standardsubstanzen Eichgeraden zu erstellen und eine quantitative Auswertung zu erreichen.

Im Falle der untersuchten Wasserextrakte ist nicht bekannt von welchen Substanzen die einzelnen Absorptionssignale hervorgerufen wurden. Es mußte deshalb ein eigenes Auswertekonzept erarbeitet werden. Bedingt durch die Struktur der erhaltenen Spektren erscheint daher eine Bereichsintegration als semiquantitative Auswertemethode ein erfolgversprechendes Verfahren zu sein.

Aufgrund der Trenneigenschaften der RP-Chromatographie und der deutlichen Zweiteilung der Spektren in einen Bereich scharfer Absorptionssignale zu Beginn und einen wenig strukturierten Bereich im weiteren Verlauf des Chromatogrammes werden zwei Integrationsbereiche ausgeschieden. Der Integrationsbereich von 210 bis 800sec. wird mit *polar*, der Bereich von 800 bis 2100sec. als *weniger polar* bezeichnet (Integralgrenzen gelten für µBondapak; bei Novapak gelten 50-800 bzw. 800-2000sec.). Um korrekte Integralwerte zu erhalten, werden die Wasserextraktspektren bei der Auswertung blindwertkorrigiert, d.h. die Integrale eines chromatographischen Laufes ohne Probeaufgabe werden bestimmt und

von den Substanzwerten subtrahiert. Die korrigierten Integralwerte von *polar* und *weniger polar* sind die Grundlage aller weiteren Berechnungen und der statistischen Analyse.

Abb.3.7: Integrationsbereiche eines typischen Wasserextrakt-Chromatogrammes mit eingetragenem Gradientenprofil



Zur Auswertung der Chromatogramme werden die Absorptionssignale des UV-Detektors in Form von Spannungswerten vom Integrator aufgezeichnet und abgespeichert. Die zeitliche Auflösung eines abgespeicherten Chromatogrammes beträgt ein Wert pro Sekunde; es können bis zu 16 Spektren im Chromatogrammspeicher des Integrators abgelegt werden. Die so abgespeicherten Spektren werden je nach Bedarf über eine RS232-Schnittstelle auf den Personalcomputer (PC) überspielt und dort, mit einem Datenblatt versehen, auf Diskette gesichert. Sie stehen somit jederzeit für die Auswertung mit einer eigens entwickelten Chromatographiesoftware zur Verfügung.

Mit dem PC besteht die Möglichkeit die Spektren bezüglich Retentionszeiten und Integrationsflächen auszuwerten.

Alle in dieser Arbeit durchgeführten Spektrenauswertungen (mit Ausnahme von Kapitel 3.3.2.) wurden mit einer entsprechend den speziellen Bedürfnissen dieser Untersuchung erstellten Chromatographiesoftware vorgenommen. Dies war notwendig, da zu Beginn der Arbeit kommerzielle Chromatographie-Softwarepakete eine Bereichsintegration nur unzureichend berücksichtigen. Die Entwicklung der Programme zur Aufzeichnung, Übertragung auf PC und Auswertung der Chromatogramme nahm mehrere Monate in Anspruch, wobei 43 kByte BASIC-Programmcode geschrieben wurden.

3.4. Versuche zur Identifizierung einzelner Inhaltsstoffe von Wasserextrakten

Typischerweise liegen die Anwendungen chromatographischer Methoden in der Identifizierung und Quantifizierung von Einzelkomponenten in einem Stoffgemisch. Die Identifizierung erfolgt anhand bekannter Standardsubstanzen, mit deren Hilfe Eichkurven zur quantitativen Auswertung der Chromatogramme erstellt werden können.

Da in den Wasserextrakten eine Vielzahl an chemischen Verbindungen vorhanden sein können, bereitet es große Schwierigkeiten einzelne Signale der RP-Chromatogramme bestimmten Substanzen zuzuordnen. Es wurde deshalb auf Verbindungen zurückgegriffen, deren Vorkommen im Boden aus der Literatur bekannt ist (siehe Literaturzusammenstellung Tab.3.3).

Zur Überprüfung der gegenseitigen Beeinflussung von Referenzsubstanzen wurde je ein Mischstandard aus aliphatischen Säuren, Benzoessäurederivaten und Zimtsäurederivaten mit Konzentrationen der Einzelkomponenten von je 100ppm hergestellt. Des weiteren wurden auch Mischungen der drei oben genannten Standards untersucht.

Tab.3.3: Referenzsubstanzen und deren Retentionszeiten

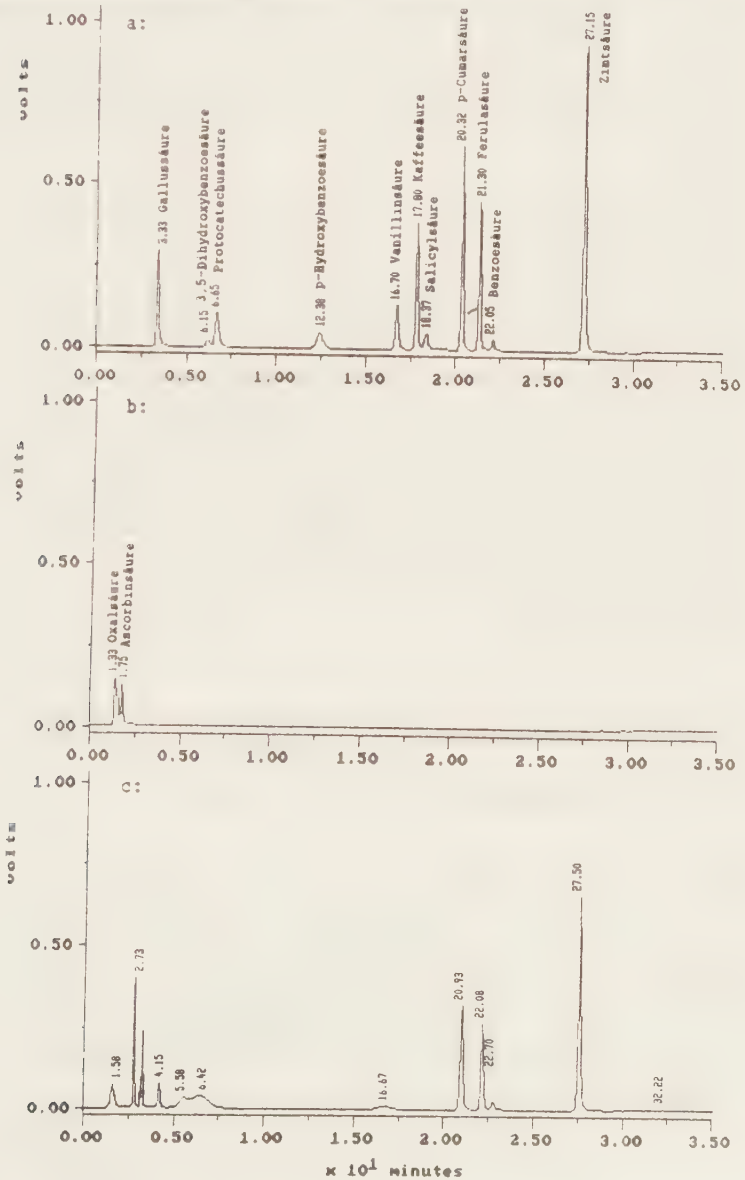
(Substanzen zusammengestellt aus KILHAM u. ALEXANDER 1984; JAUREGUI u. REISENAUER 1982; KAURICHEV et al. 1963; HUE et al. 1986, MARTIN u. HAIDER 1971; HAIDER u. MARTIN 1967; KÖGEL u. ZECH 1985; KUWATSUKA u. SHINDO 1973; SHINDO u. KUWATSUKA 1975, 1976; HUANG et al. 1977; FLAIG 1971; JALAL u. READ 1983; SHINDO et al. 1978)

Referenzsubstanz	t _R (Novapak)	Intensität bei 280nm
1 Oxalsäure	1.30	stark
2 Essigsäure	1.37	----
3 Weinsäure	1.54	schwach
4 Maleinsäure	1.61	schwach
5 Citronensäure	1.62	schwach
6 Äpfelsäure	1.68	sehr schw.
7 Ameisensäure	1.75	----
8 Ascorbinsäure	1.77	stark
9 Phloroglucin	2.85	sehr schw.
10 Gallussäure	3.30	stark
11 Pyrogallol	3.57	stark
12 3,5-Dihydroxybenzos	6.02	schwach
13 Protocatechussäure	6.53	stark
14 Brenzkatechin	8.63	sehr stark
15 p-Hydroxybenzoesre.	12.13	schwach
16 Vanillinsäure	16.85	stark
17 Kaffeesäure	17.76	sehr stark
18 Salicylsäure	18.27	schwach
19 p-Cumarsäure	20.30	sehr stark
20 Ferulasäure	21.21	sehr stark
21 Benzoesäure	21.93	schwach
22 Zimtsäure	27.10	sehr stark

Wie Abb.3.8a zeigt, lassen sich Benzoe- und Zimtsäurederivate sehr gut nebeneinander nachweisen. Die Retentionszeiten der einzelnen Verbindungen sind in der Mischung nur wenig verschieden von den t_R-Werten der Reinsubstanzen (vgl. Tab.3.3). Im Retentionsverhalten der Hydroxyderivate der Benzoesäure zeigt sich eindrucksvoll das Trennprinzip der Reversed-phase-HPLC, nämlich zunehmende Retention mit abnehmender Hydrophilie. Die gute Auftrennung der einzelnen Substanzen bestätigt den verwendeten Lösungsmittelgradienten.

Die Mischung der aliphatischen Säuren (Abb.3.8b) wird wegen der eng beieinander liegenden Retentionszeiten der Einzelkomponenten nicht aufgelöst. Das Chromatogramm wird daher von den bei 280nm gut detektierbaren Substanzen Oxalsäure und Ascorbinsäure bestimmt.

Abb.3.8: RP-Chromatogramme von a: Benzoe- und Zimtsäurederivaten (Konzentration je 50ppm); b: aliphatischen Säuren (Konzentration je 100ppm); c: einer Mischung von Benzoe- und Zimtsäurederivaten mit aliphatischen Säuren (Konzentration je 33ppm)



In Abb.3.8c ist das HPLC-Spektrum einer 1:1:1-Mischung aller drei Standards dargestellt. Anstatt des zu erwartenden Summenchromatogrammes aus Abb.3.8a und Abb.3.8b erhält man ein Chromatogramm in dem eine Reihe von Einzelkomponenten, vor allem solche mit aktivem π -System, nicht mehr vorhanden und mehrere Absorptionssignale neu entstanden sind. Dies bedeutet, daß bestimmte Kombinationen aus aliphatischen und phenolischen Carbonsäuren in Reinsubstanz nicht nebeneinander vorkommen können, da die Einzelkomponenten miteinander reagieren.

Einzelsubstanzen haben in einem so komplexen, von einer großen Anzahl chemischer Gleichgewichte bestimmten System wie es die untersuchten Wasserextrakte darstellen, vielfältige Reaktionsmöglichkeiten. Deshalb sind Versuche zur Identifizierung einzelner Inhaltsstoffe durch Zugabe und Wiederfindung von Referenzsubstanzen nur bedingt möglich.

In einigen Extrakten deuten die Retentionszeiten einzelner Signale auf das Vorhandensein von Oxalsäure und Gallussäure hin. Eine Aufstockung der Extrakte mit entsprechenden Standards erbringt aber keine quantitative Wiederfindung der zugegebenen Mengen. Das zum Teil vollständige Verschwinden des HPLC-Signals zugegebener Standards läßt sich neben chemischen Reaktionen auch durch die Bildung von schwerlöslichen Salzen und Ionenpaaren mit den in den Wasserextrakten enthaltenen anorganischen Kationen erklären.

3.5. Beziehung zwischen quantitativer Chromatogrammauswertung und dem DOC-Gehalt der Wasserextrakte

Abb.3.9 zeigt die Ergebnisse der numerischen Peakflächenintegration in Abhängigkeit vom DOC-Gehalt des Wasserextraktes. Für diese Auswertung wurden die Probenahmeterminale April, Mai und September 87 verwendet. Dabei zeigt sich, daß die numerische Peakflächenintegration des HPLC-UV-Signals bei 280nm mit einem Korrelationskoeffizienten von 0.9644 ein gutes Maß für den Gehalt der Probe an gelöstem organischen Kohlenstoff darstellt.

Da Kohlenhydrate, Aminosäuren und andere nicht chromophore Stoffgruppen bei der UV-Detektion nicht erfaßt werden, ist ein derart enger

Zusammenhang zwischen DOC und der Integration des UV-Signales eher unerwartet. Er läßt darauf schließen, daß in der Gesamtheit der WOS das Verhältnis von chromophoren zu nicht chromophoren organischen Bausteinen in einem eng umgrenzten Bereich konstant bleibt.

Abb.3.9: Korrelation zwischen HPLC-UV (280nm) und DOC [mg/l]

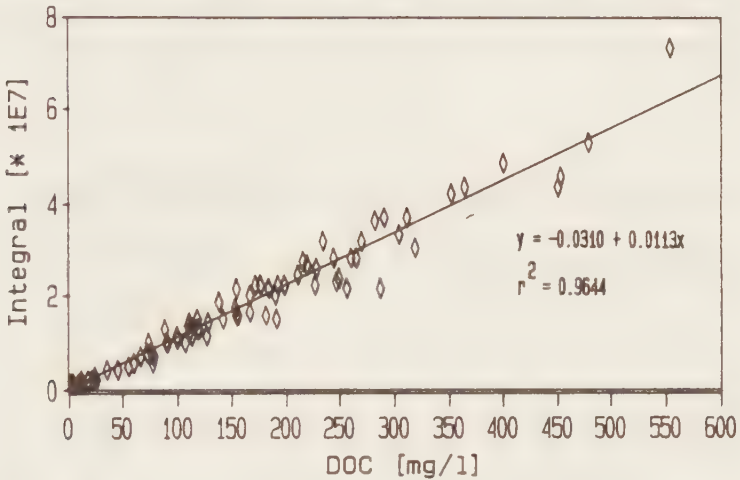
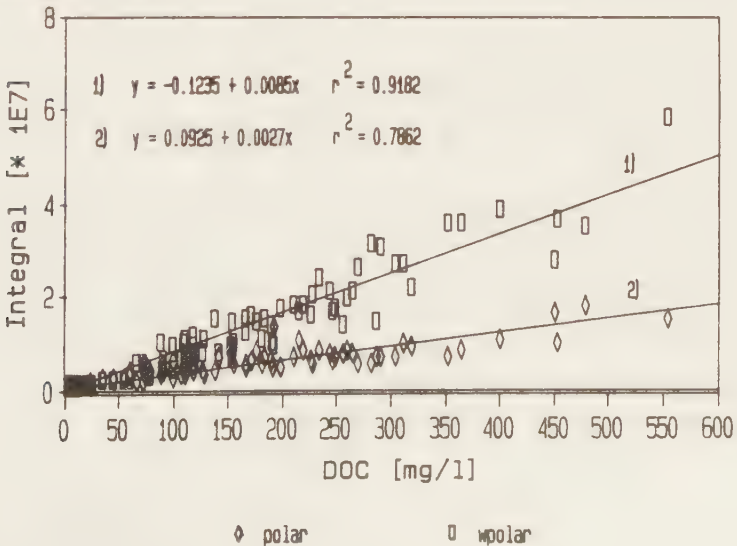


Abb.3.10: Integralwerte für die polare und weniger polare Fraktion in Abhängigkeit vom DOC



Trägt man die Integrale des polaren und weniger polaren Spektrsbereiches in Abhängigkeit vom DOC-Gehalt des Extraktes auf (Abb.3.10), so erhält man ebenfalls lineare Zusammenhänge mit Korrelationskoeffizienten von 0.7862 bzw. 0.9182 .

Aus den beiden Regressionsgeraden ergibt sich ein mittleres Polaritätsverhältnis *polar* zu *weniger polar* von 1 zu 3.12. Die niedrigeren Werte der weniger polaren Fraktion können sowohl durch einen mengenmäßig geringeren Anteil, als auch einen geringeren Anteil chromophorer Strukturen bedingt sein.

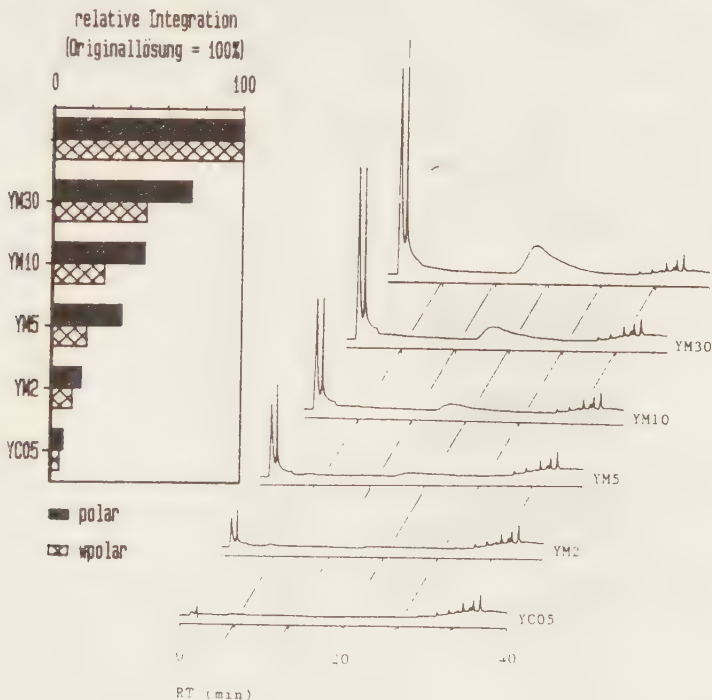
3.6. Beziehung zwischen HPLC-Fractionen und der Molekülgröße; Dialyse und Ultrafiltration, Adsorption an mineralische Oberflächen

Da die erhaltenen WOS-HPLC-Spektren stets eine deutliche Zweiteilung in einen polaren Bereich mit scharfen Absorptionssignalen und einen weniger polaren Bereich mit einer breiten, kaum strukturierten UV-Absorption aufzeigen, sollte versucht werden, diese unterschiedlichen Stoffgruppen näher zu charakterisieren. Hierzu bietet sich die Untersuchung der Molekülgrößenverteilung an (SWIFT u. POSNER 1971; ANDERSON u. HEPBURN 1977; TAN 1977; DAWSON et al. 1981).

Zur Überprüfung eines eventuellen Molekülgrößenunterschiedes zwischen *polar* und *weniger polar* wurden deutlich gelb gefärbte Wasserextrakte aus den Auflagehorizonten mit einem Ultrafiltrationsgerät (Amicon LP-1A) durch Membranen abnehmender Porengröße filtriert. Es wurden Ultrafiltrationsmembranen der Fa. Amicon mit Porendurchmessern (Ausschlußgrenzen) von 22A (30000), 17A (10000), 15A (5000), 13A (2000) und 11A (500) verwendet (Filter Nr. YM30, YM10, YM5, YM2 und YC05). Durch die konzentrations-, pH- und elektrolytabhängige Struktur von Huminstoffen (GHOSH u. SCHNITZER 1980) sind die für die verwendeten Membranen angegebenen Ausschlußgrenzen, ähnlich wie bei der Gelchromatographie, nur als grobe Anhaltswerte zu sehen (CAMERON et al. 1972).

Abb.3.11 zeigt die HPLC-Spektren eines Wasserextraktes aus dem Oh-Horizont der A1-Fläche nach erfolgter Membranfiltration. Mit abnehmender Porengröße geht die Färbung der Lösungen deutlich zurück, so daß bei 11A Porendurchmesser ein farbloses Filtrat erhalten wird.

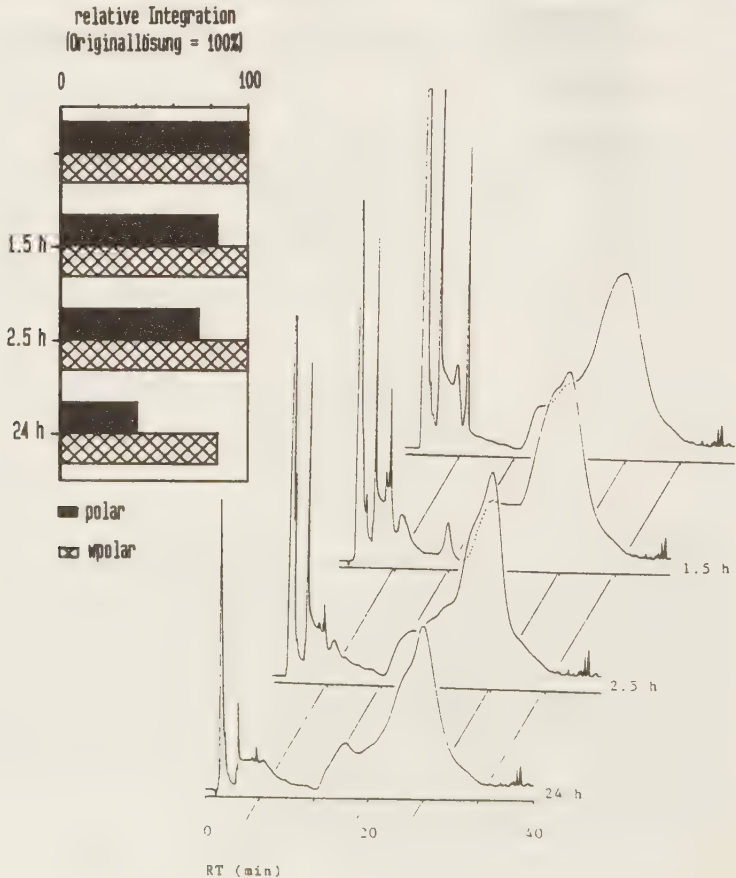
Abb.3.11: Ultrafiltration eines Wasserextraktes aus dem Oh-Horizont der A1-Fläche; HPLC-Spektren der Originallösung und des Filtrates aus Membranen YM30 (22A), YM10 (17A), YM5 (15A), YM2 (13A) u. YC05 (11A) und Darstellung der Integration



Es zeigt sich, daß mit abnehmender Porengröße zunächst im weniger polaren Bereich eine deutliche Abnahme der UV-Absorption erfolgt. Bei Verwendung von Membranfiltern mit kleinen Ausschlußgrenzen werden auch die polaren Anteile stärker zurückgehalten, so daß letztlich nur noch ca. 3% der UV-Absorption nachgewiesen werden können. Da die weniger polare Fraktion stets stärker vom Membranfilter zurückgehalten wird als die polare Fraktion, kann auf ein im Durchschnitt höheres Molekulargewicht des weniger polaren Anteiles geschlossen werden.

In Ergänzung zu den Ultrafiltrationsexperimenten wurde auch ein Dialyseversuch durchgeführt. Dabei wurde ein Wasserextrakt aus dem LOfl-Horizont der A2-Fläche in einem Dialysierschlauch (Servapor #44142) mit einem Porendurchmesser von 1.5-2.0nm gegen H₂O dest dialysiert und die zeitliche Veränderung mittels HPLC verfolgt. Dabei nimmt mit fortschreitender Dialysezeit der Anteil der polaren Komponente deutlich ab, so daß das ursprüngliche Verhältnis von polar zu weniger polar von 1:1.99 nach 24 Stunden auf 1:4.05 verschoben wird. Die polare Fraktion ist somit im Dialyseexperiment die mobilere Komponente der WOS, was auf ein geringeres mittleres Molekulargewicht dieser Fraktion schließen läßt.

Abb.3.15: Dialyse eines Wasserextraktes aus dem LOfl-Horizont der A2-Fläche; HPLC-Spektren der Originallösung und des Retentates nach 1.5, 2.5 u. 24 Stunden Dialysierzeit



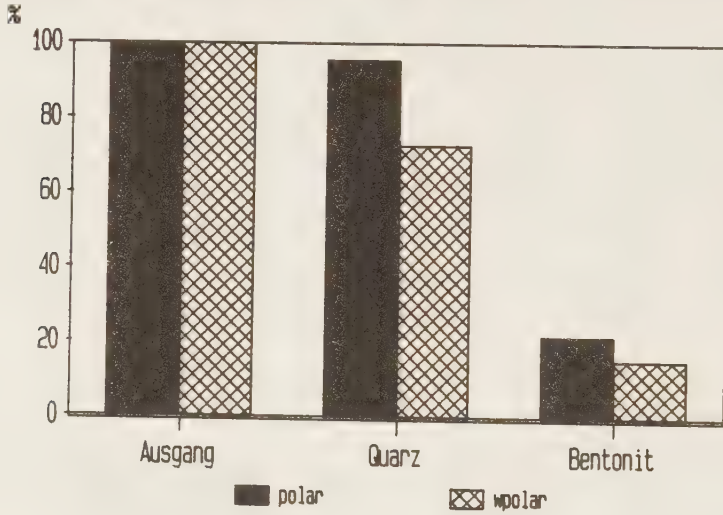
Dialyse und Ultrafiltration zeigen, daß sich die aufgrund ihres chromatographischen Verhaltens unterschiedenen Substanzklassen *polar* und *weniger polar* auch deutlich in ihrer Molekülgrößenverteilung unterscheiden. So hat die Fraktion *polar* ein geringeres Molekulargewicht aufzuweisen als die Fraktion *weniger polar*. Dieser Sachverhalt steht in Einklang mit den Beobachtungen von DELL'AGNOLA und FERRARI (1971), die für Huminstoffe mit einem Molekulargewicht kleiner 100000 eine Acidität von 12.03meq/g und für Huminstoffe > 100000 von nur 7.78meq/g fanden. Auch TSUTSUKI u. KUWASUKA (1984) fanden eine abnehmende Acidität mit zunehmender Molekülgröße bei Huminsäuren. Ein Zusammenhang zwischen Acidität und der in dieser Untersuchung bestimmten Polarität ist somit wahrscheinlich.

Wie gelchromatographische Studien zeigen (GRUHN et. al. 1985; KÖNIG 1985) werden höhermolekulare (und damit weniger polare) organische Bodeneinhaltsstoffe im Mineralboden stärker zurückgehalten als niedermolekulare. Dabei spielen Ausfällungsreaktionen durch anorganische Kationen (MARTIN u. REEVE 1960) und die Adsorption an mineralische Oberflächen (EVANS u. RUSSELL 1959; DRISCOLL et al. 1985; HUANG et al. 1977) eine wesentliche Rolle.

In Abb 3 16 ist der Einfluß von mineralischen Oberflächen auf einen Wasserextrakt aus dem LOfl-Horizont der A2-Fläche dargestellt. Für diesen Versuch wurde der Extrakt vier Stunden mit Quarzsand (relativ inaktive Oberfläche) bzw. mit Bentonit (aktive Tonmineraloberfläche) ins Gleichgewicht gesetzt, anschließend membranfiltriert und mit RP-HPLC untersucht.

Die organischen Inhaltsstoffe des Auflageextraktes werden an die verwendeten mineralischen Oberflächen adsorbiert, wobei das Tonmineral Bentonit erwartungsgemäß eine stärkere Reduktion der WOS bewirkt als Quarz. Die stärkere Adsorption der weniger polaren Fraktion bestätigt die bisher gemachten Aussagen über Polarität und Molekülgrößenverteilung der beiden HPLC-Fractionen.

Abb.3.16: Einfluß der Adsorption an mineralische Oberflächen auf die Fraktionen *polar* und *weniger polar* eines Wasserextraktes aus dem LOF1-Horizont der A2-Fläche (Originallösung = 100%)



3.7. Kurze Zusammenfassung der methodischen Untersuchungsergebnisse

Für die Routineuntersuchung der WOS im Rahmen des Höglwaldprojektes werden die Trennmaterialien μ Bondapak C18 und Novapak C18 unter Verwendung eines Lösungsmittelgradienten von 95% H_3PO_4 (pH 3.5)/5% CH_3CN nach 100% CH_3CN eingesetzt.

Der gleichförmige Verlauf von Huminstoff-UV-Spektren ermöglicht eine freie Wahl der Detektionswellenlänge für die HPLC-Untersuchungen der Wasserextrakte im Bereich von 210 bis 400nm. Bei der gewählten Wellenlänge von 280nm besteht eine sehr gute Korrelation ($r^2 = 0.9685$) zwischen der numerischen Integration des HPLC-UV-Signals und dem gelösten organischen Kohlenstoff (DOC) des untersuchten Wasserextraktes.

Die Unterscheidung der HPLC-Fraktionen *polar* und *weniger polar* gründet sich neben dem Polaritätsunterschied auch in der unterschiedlichen Molekülgrößenverteilung. Dementsprechend werden die beiden HPLC-Fraktionen auch verschieden stark an mineralische Oberflächen adsorbiert.

4. Der Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf die WOS

4.1. Ergebnisse der HPLC-Untersuchungen

4.1.1. Darstellung der Ergebnisse

In diesem Kapitel soll eine mehr qualitativ beschreibende Darstellung der Auswirkungen von saurer Beregnung und Kalkung auf die WOS gegeben werden. Die quantitative Auswertung unter Verwendung geeigneter statistischer Methoden erfolgt in Kapitel 4.1.2.

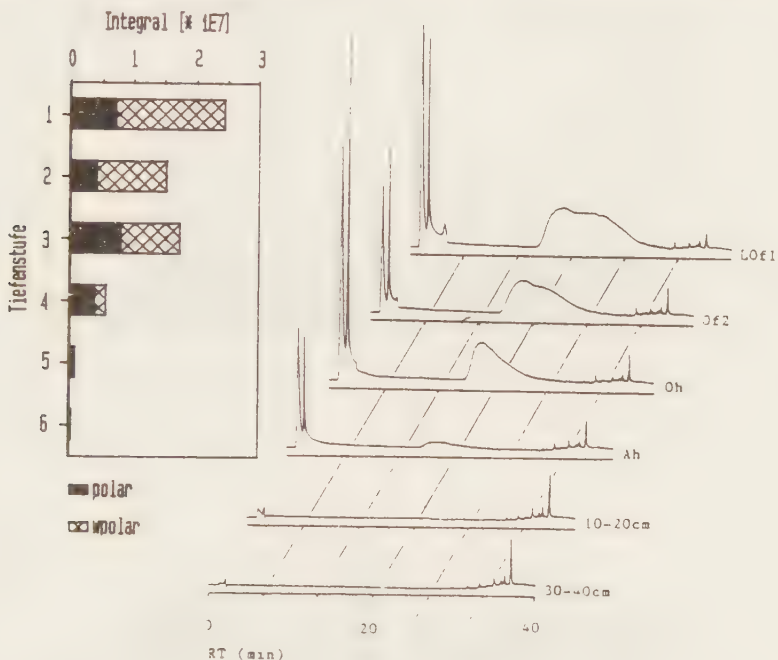
Um die Vergleichbarkeit der Ergebnisse auf den einzelnen Versuchsparzellen zu gewährleisten sind alle Abbildungen in diesem Kapitel in einer für den jeweiligen Grafiktyp einheitlichen Skalierung dargestellt. Eine daraus für manche Effekte bedingte unvorteilhafte Darstellung wird bewußt in Kauf genommen.

Vor der Beschreibung des Einflusses von saurer Beregnung und Kalkung auf die WOS sollen zunächst allgemeine, auf allen Versuchsparzellen auftretende Effekte behandelt werden. Auf die in diesem Zusammenhang vorgestellten Übersichtsgraphiken wird bei der Besprechung der Behandlungsvarianten des öfteren zurückgegriffen werden.

Allgemeiner Zeit- und Tiefenverlauf der WOS auf den Versuchsparzellen

Entsprechend dem mit zunehmender Profiltiefe zurückgehenden C-Gehalt des Standortes Höglwald (vgl. Tab.2.2) verhält sich auch die WOS in den untersuchten Wasserextrakten. In Abb.4.1 ist ein typischer Tiefenverlauf der WOS-HPLC-Spektren auf der Kontrollfläche dargestellt, wobei an dieser Stelle nochmals auf die durch die Gewinnung der Wasserextrakte bedingten Einschränkungen bei der Durchführung von Tiefenvergleichen hingewiesen werden soll (vgl. 2.2.1.).

Abb.4.1: Tiefenabhängigkeit der RP-HPLC-Spektren und der Integrale der Fraktionen *polar* und *weniger polar* auf der Kontrollfläche A1 (Probenahme April 87, Zwischenfläche)



Die in Abb.4.1 exemplarisch aufgezeigte Tiefenabhängigkeit der RP-HPLC-Spektren gilt im Prinzip auf allen Flächen. Der im Verhältnis zur polaren Fraktion stärkere Rückgang der Werte von *weniger polar* im Mineralboden läßt sich durch den bereits diskutierten größeren Einfluß der mineralischen Komponente auf diese Fraktion erklären (vgl. 3.6).

In den Abb.4.2 u. 4.3 sind die WOS-Gehalte als Summe der beiden HPLC-Fraktionen für alle Probenahmetermine 1986 u. 1987 aufgeführt. Die Beschränkung auf die Auflagehorizonte dient einer übersichtlicheren Darstellung des Zeitverlaufes und wird durch die oberflächige Einwirkung von Beregnung und Kalkung gerechtfertigt.

Abb.4.2: Zeitverlauf der Summe der Integrale von *polar* und *weniger polar* in den Auflagehorizonten; alle Probenahmeterminne 1986 u. 1987 auf den ungekalkten Versuchspartzellen

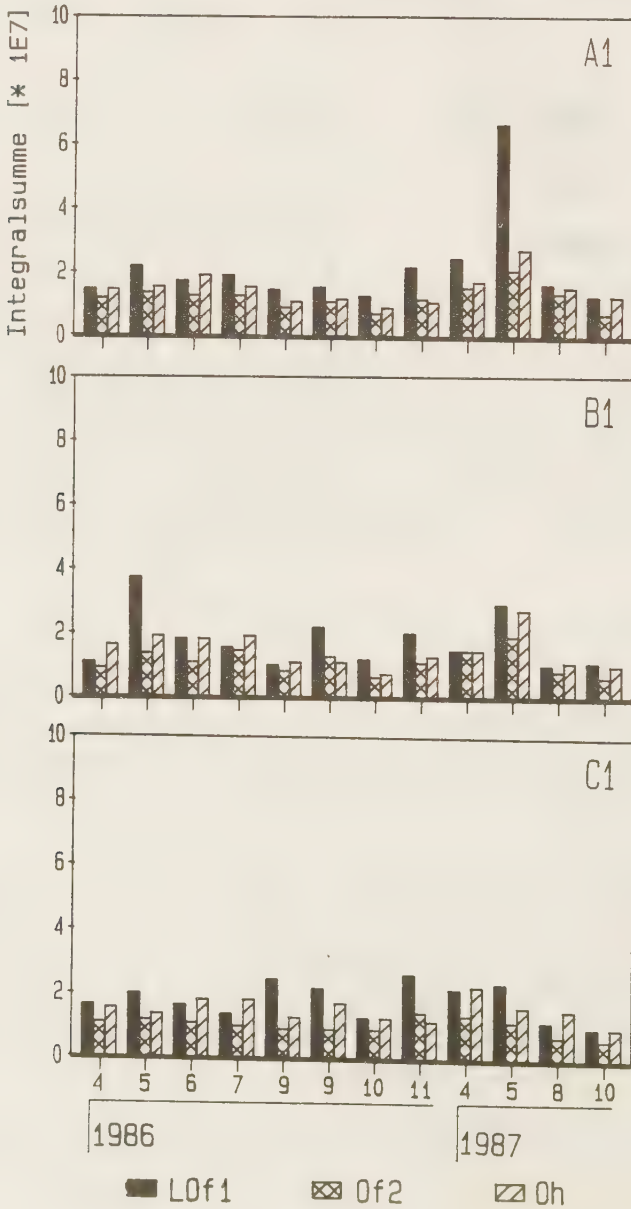
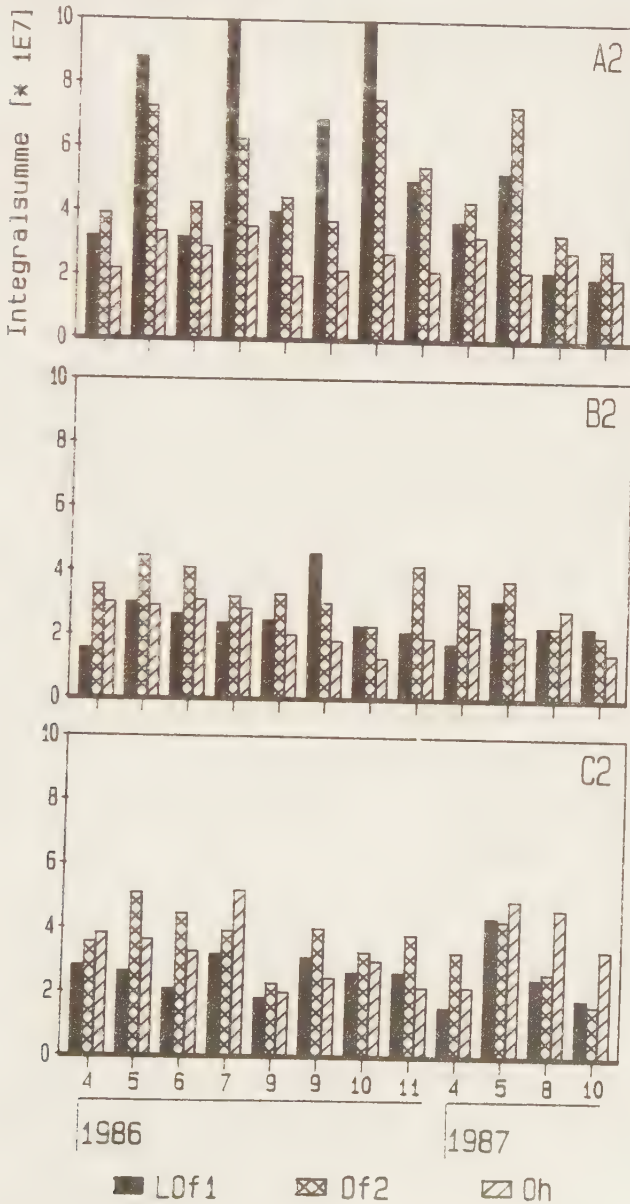


Abb.4.2: Zeitverlauf der Summe der Integrale von *polar* und *weniger polar* in den Auflagehorizonten; alle Probenahmeterminale 1986 u. 1987 auf den gekalkten Versuchspartzellen



Auf der Kontrollfläche A1 deutet sich vor allem für 1987 ein Jahresgang der WOS-Gehalte mit einem Anstieg der Werte im Frühjahr und einem Rückgang im Herbst an. Für das Jahr 1987 kann ein ähnliches Verhalten auch auf allen Behandlungsvarianten beobachtet werden, wogegen sich für 1986 ein eher nivelliertes Bild bietet.

Auffällig ist, daß in den Auflagehorizonten der ungekalkten Versuchsparzellen bei 32 von 36 Probenahmen ein Minimum der WOS-Werte im Of2-Horizont festzustellen ist. Diese Sonderstellung des Of2-Horizontes kann weder bei der Betrachtung der mikrobiellen Aktivität (KREUTZER u. ZELLES 1982) noch bei den pH-Werten (REITER 1986) wiedergefunden werden.

Durch die schon beschriebene unterschiedliche Wechselwirkung mit dem Mineralboden verändert sich das Verhältnis der beiden HPLC-Fractionen zueinander in Abhängigkeit von der Profiltiefe. So dominiert in den Auflagehorizonten die Fraktion *weniger polar*, in den tieferen Mineralbodenhorizonten die Fraktion *polar*.

Der in Abb.4.4 u. 4.5 aufgezeigte Zeitverlauf des Verhältnisses von *weniger polar* zu *polar* in den Horizonten LO1 bis Ah ergibt auf allen Versuchsparzellen maximale Werte im Of2-Horizont. Ab dem Of2 nimmt der weniger polare Anteil mit zunehmender Tiefe erwartungsgemäß ab.

Eine Sonderstellung nimmt der LO1-Horizont ein, der auf den ungekalkten Flächen in seinem Polaritätsverhältnis eher dem Of2, auf den gekalkten eher dem Oh ähnlich ist. Der höhere polare Anteil in diesem obersten Humushorizont ist auf den geringen Zersetzungs- bzw. Humifizierungsgrad der relativ frischen Nadelstreu zurückzuführen.

Die zeitliche Entwicklung des Polaritätsverhältnisses erbringt im Untersuchungszeitraum eine stetige Verschiebung hin zu einem höheren polaren Anteil. Da diese Beobachtung auf allen sechs Versuchsvarianten gemacht werden kann, ist dies kein behandlungsspezifischer Effekt. Dieser dem Versuch übergeordnete Zeittrend ist höchstwahrscheinlich klimatisch bedingt, da sowohl 1986, als auch besonders 1987, eher feuchte Jahre waren. Am untersuchten Fichtenbestand wurden keine Veränderungen vorgenommen, bzw. beobachtet, die ein verändertes Bestandesklima bewirkt hätten.

Abb.4.4: Zeitliche Veränderung des Verhältnisses von *weniger polar* zu *polar* in den Tiefenstufen 1 bis 4 auf den ungekalkten Versuchsparzellen (Angabe der Probennummern)

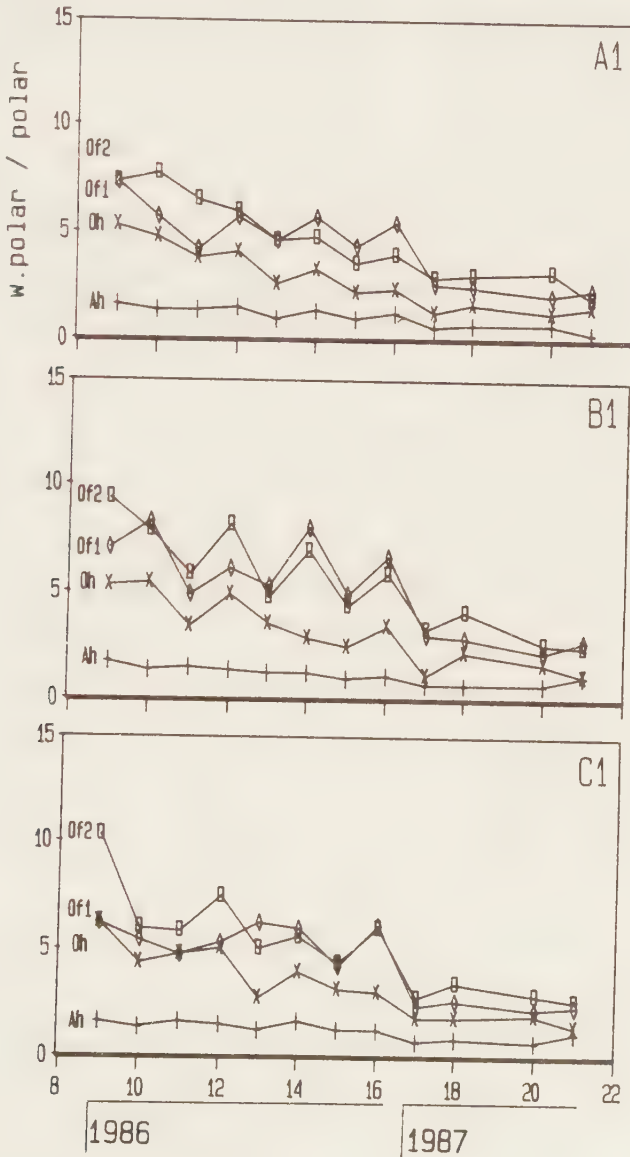
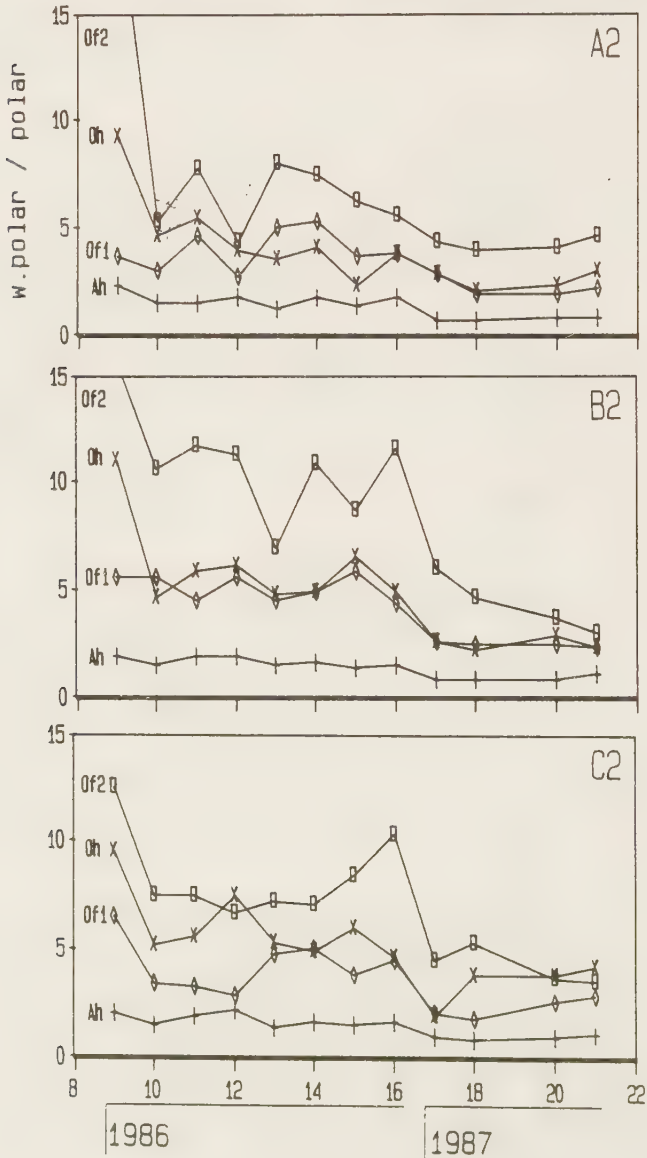


Abb.4.5: Zeitliche Veränderung des Verhältnisses von *weniger polar* zu *polar* in den Tiefenstufen 1 bis 4 auf den gekalkten Versuchspartzellen (Angabe der Probenahmenummern)



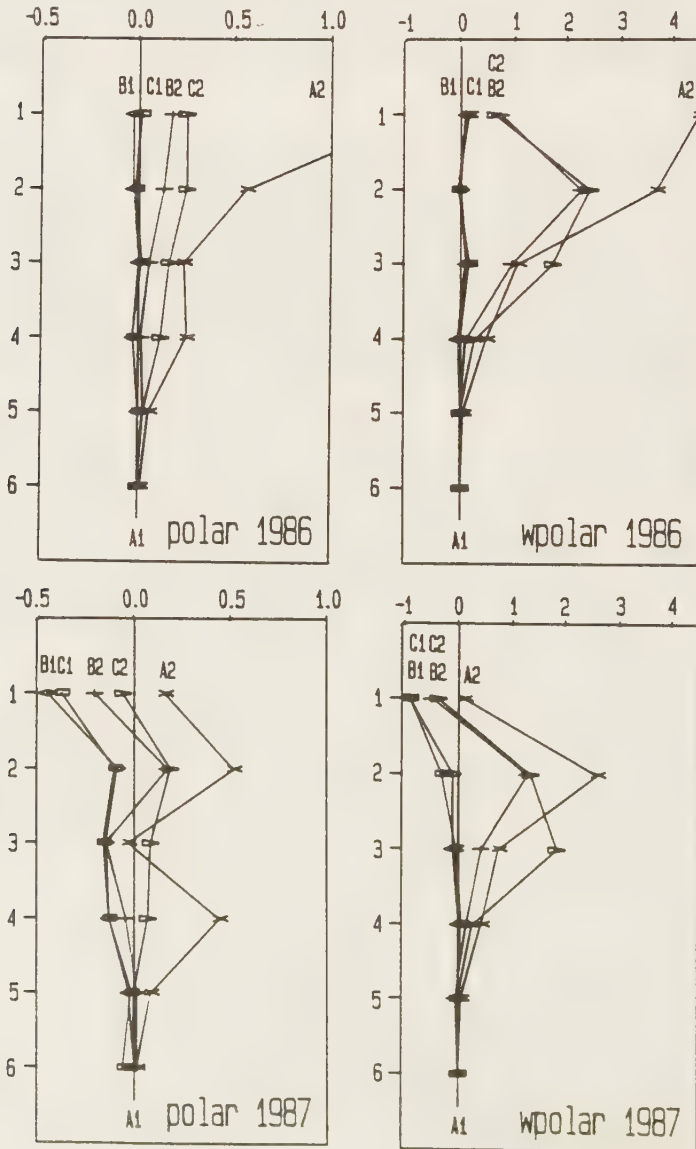
Für die Beschreibung der Behandlungseffekte ist der in Abb.4.6 aufgeführte Vergleich der behandelten Versuchspartzen mit der Kontrollfläche von besonderer Bedeutung. In dieser Darstellung ist die Abweichung der Integralwerte der Behandlungsvarianten von der Kontrolle für alle Tiefenstufen aufgeführt, wobei Jahresmittelwerte für 1986 u. 87 betrachtet werden.

Ohne an dieser Stelle schon auf die Effekte der experimentellen Behandlung näher einzugehen, läßt sich ein deutlicher Unterschied der beiden Beobachtungszeiträume feststellen. Während 1986 die Partzen B1 und C1 kaum von der Kontrolle verschieden sind, heben sich die gekalkten Flächen deutlich durch höhere Integralwerte für die beiden HPLC-Fraktionen hervor. Diese Mobilisierung der WOS ist bis in den Ah hinein deutlich sichtbar, in größerer Tiefe nähern sich alle Versuchspartzen sehr stark an.

Der Flächenvergleich 1987 hebt sich deutlich von dem des Vorjahres ab. Besonders auffällig ist die Reaktion der Werte im LOfl-Horizont, wo der positive Kalkungseffekt nahezu verschwindet und auf den zusätzlich beregneten Partzen sogar eine Verringerung der Werte eintritt. Auf den Flächen B1 und C1 ist ein Rückgang der HPLC-Integrale deutlich sichtbar. Eine durchgängige Erhöhung der Werte auf den gekalkten Partzen ist nur bei der Fraktion *weniger polar* in den Tiefenstufen 2 bis 4 zu beobachten.

Eine Erklärung für diese überraschenden Ergebnisse kann in dem im Jahr 1987 mit 630mm um nahezu 25% gegenüber dem Vorjahr erhöhten Bestandesniederschlag gesehen werden. Das Verhalten der Fläche A2 gleicht sich dem von B2 und C2 an und auf allen beregneten Partzen wird der Effekt des zusätzlichen Wasserangebotes deutlich verstärkt.

Abb.4.6: Abweichung der Integralwerte von *polar* und *weniger polar* der behandelten Versuchspartzellen von der Kontrollfläche; Jahresmittelwerte für 1986 u. 87 in den Tiefenstufen 1 bis 6

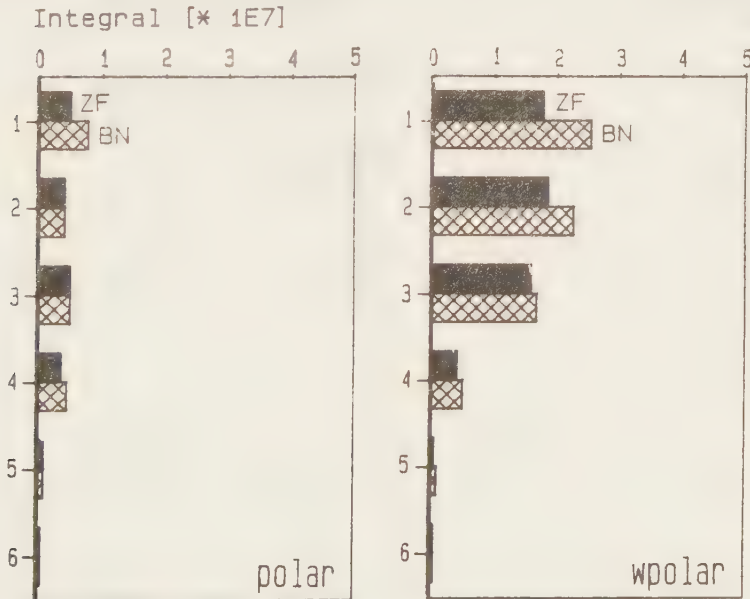


Einfluß des Baumabstandes; Vergleich Zwischenfläche - baumnah

In Abb.4.7 ist der Einfluß des Baumabstandes auf die beiden HPLC-Fractionen dargestellt. Dabei ergeben sich für die weniger polare Fraktion durchweg höhere Werte auf den baumnahen Probenahmepunkten. Bei der polaren Fraktion tritt dieser Effekt weniger deutlich und auch nicht in allen Horizonten auf.

Die in den Wurzelachseln der Bäume liegenden baumnahen Probenahmepunkte zeichnen sich durch eine stärkere Durchwurzelung und eine im Durchschnitt etwas mächtigere Humusauflage aus. Ferner besitzen sie aufgrund des veränderten Licht- und Feuchtigkeitsangebotes ein verändertes Mikroklima, was insgesamt die WOS-Gehalte beeinflussen dürfte.

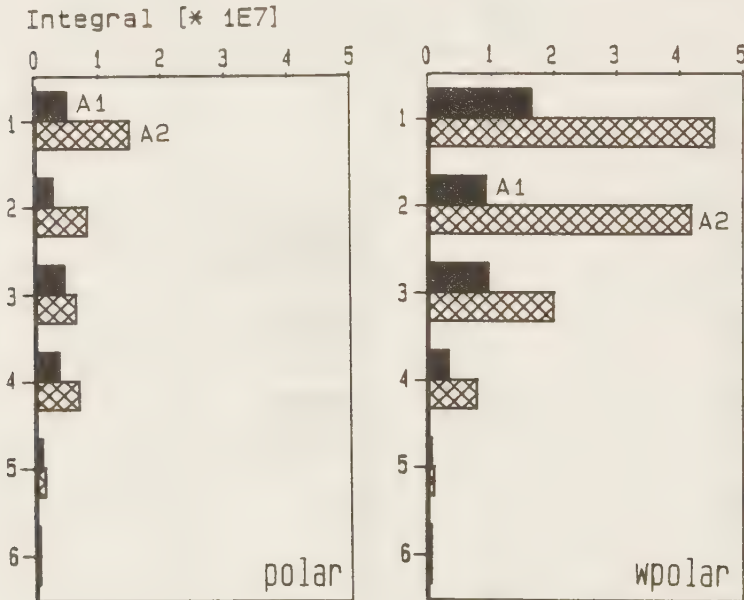
Abb.4.7: Einfluß des Baumabstandes auf die Integralwerte von *polar* und *weniger polar*; Mittelwerte aller Flächen und Termine in den einzelnen Tiefenstufen



Einfluß der Kalkung; Vergleich A1-A2

Ähnlich den Beobachtungen von LAMERSDORF u. KÖNIG (1985) kann auch im Höglwald eine starke Mobilisierung der WOS im Oberboden nach Kalkung festgestellt werden (Abb.4.2). Dabei werden vor allem die Horizonte LOF1 u. Of2 erfaßt, da der 1984 oberflächlich ausgebrachte Dolomit sich noch in diesen Bodenschichten befindet. Bei der polaren Fraktion läßt sich eine Mobilisierung bis in 30-40cm nachweisen, bei der Fraktion *weniger polar* dagegen nur bis in 10-20cm Tiefe.

Abb.4.8: Einfluß der Kalkung auf die Integralwerte von *polar* und *weniger polar*; Mittelwerte aller Termine in den einzelnen Tiefenstufen

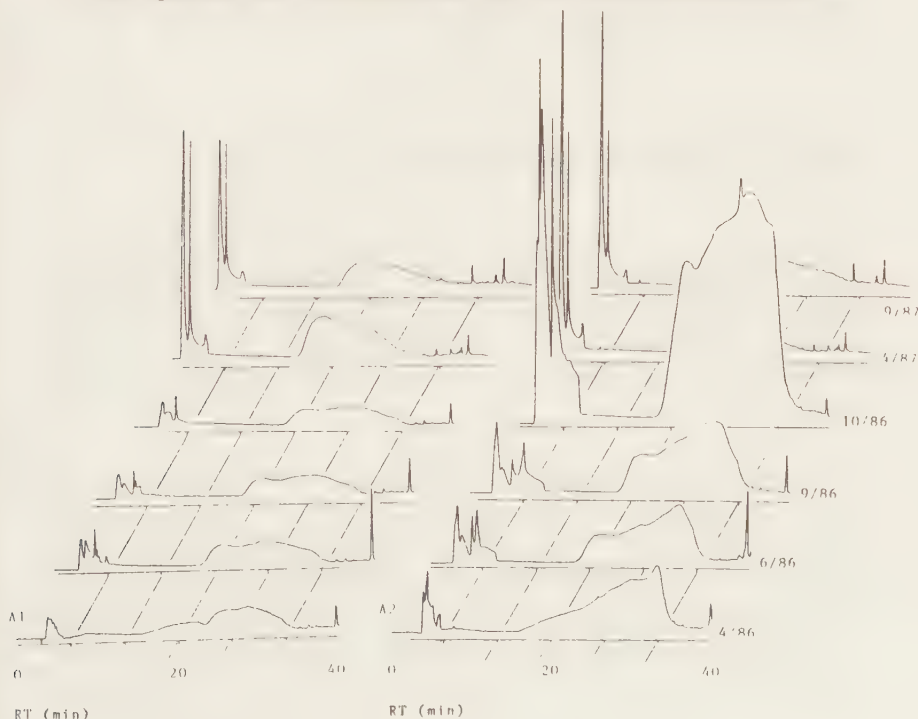


Für die Mobilisierung der WOS auf den Kalkflächen sind im wesentlichen zwei Effekte von Bedeutung. Zum einen bedingt die mit der Kalkung verbundene pH-Erhöhung (vgl. Tab.5.2) eine erhöhte Löslichkeit organischer Bodeneinhaltsstoffe (STEVENSON 1982; FLAG et al. 1975). Zum anderen wird die mikrobielle Aktivität erhöht (LANG u. BEESE 1985; KREUTZER u. ZELLES 1986,

ABRAHAMSEN et al. 1980), was eine stärkere Mineralisation und damit eine vermehrte Bildung wasserlöslicher organischer Substanzen bewirkt.

Da die Kalkung im Jahre 1984 als oberflächige Ausbringung ohne Einarbeitung erfolgte, ist eine allmähliche Tiefenverlagerung des aufgetragenen Dolomits und damit ein Zeittrend zu erwarten. Wie Abb.4.3 zeigt ist 1986 bei vier von acht Probenahmeterminen das Maximum der WOS im LOf1-Horizont zu finden. Im Jahre 1987 ist bei allen vier Terminen das WOS-Maximum im Of2-Horizont. Es deutet sich somit eine Verlagerung der maximalen Löslichkeit der WOS in tiefere Auflagehorizonte an, da bedingt durch den Streufall ständig frisches Nadelmaterial auf der Bodenoberfläche abgelagert wird. Dieser Effekt tritt auf den zusätzlich beregneten Kalkflächen (B2, C2) aufgrund der besseren Durchfeuchtung deutlicher in Erscheinung (vgl. Diskussion der Flächen B2, C2 und Abb.4.6).

Abb.4.9: Qualitative Veränderung der HPLC-Spektren auf den Flächen A1 u. A2; Spektren des LOf1-Horizontes auf den Zwischenflächenpunkten



Neben den bereits diskutierten zeitlichen Veränderungen der Integralsumme aus *polar* und *weniger polar* sind auch deutliche Verschiebungen im qualitativen Aussehen der WOS-HPLC-Spektren zu beobachten (Abb.4.9). Dabei fällt vor allem eine sich mit fortschreitender Versuchsdauer verringernde Strukturierung der Spektren auf, die zu einer Angleichung des Aussehens der Chromatogramme im LOfl-Horizont der Flächen A1 und A2 führt.

Dieser Zeittrend der qualitativen Annäherung der Spektren von A1 und A2 läßt sich, wenn auch weniger deutlich in den übrigen Auflagehorizonten feststellen. Im Mineralboden sind sich die auf den beiden Flächen erhaltenen Spektren durch die geringeren WOS-Werte und den Einfluß der mineralischen Oberflächen von vornherein recht ähnlich.

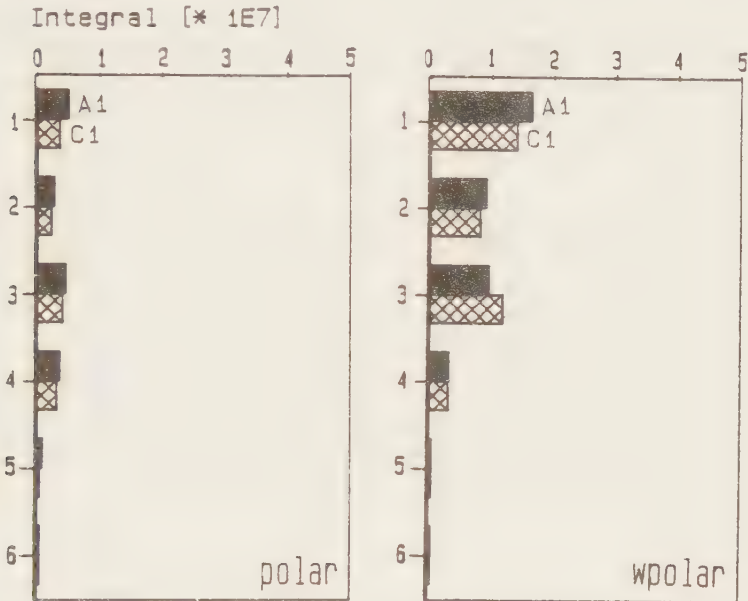
Eine mögliche Erklärung für das beobachtete Verhalten liegt darin, daß die durch die Kalkung erfolgte Störung der Bodenchemie nunmehr vier Jahre zurückliegt. Die durch diesen Eingriff bedingten Veränderungen streben allmählich einem Gleichgewichtszustand zu, der sich den auf der Kontrollfläche vorgefundenen Verhältnissen annähert.

Einfluß des zusätzlichen Wasserangebotes, Vergleich A1-C1

Der Vergleich der Flächen A1 und C1 über alle Probenahmen in Abb.4.10 erbringt, daß das zusätzliche Wasserangebot eine leichte Verringerung der Werte der polaren Fraktion bis in den Ah-Horizont bewirkt. Für die weniger polare Fraktion ist in den Horizonten LOfl und Of2 eine Verringerung, im Oh und in 10–20cm Tiefe dagegen eine Erhöhung der Werte festzustellen.

Die differenziertere Betrachtung in Abb.4.6 ergibt, daß 1986 nur ein sehr geringer Behandlungseffekt beobachtet werden kann, wogegen 1987 ein deutlicher Rückgang der Integralwerte durch den zusätzlichen Wassereintrag festzustellen ist. Dabei reagiert die weniger polare Fraktion nur in den Auflagehorizonten, bei der Fraktion *polar* sind Veränderungen in allen Horizonten zu beobachten.

Abb.4.10: Einfluß des zusätzlichen Wasserangebotes auf die Integralwerte von *polar* und *weniger polar*; Mittelwerte aller Termine in den einzelnen Tiefenstufen



Eine Erklärung des gefundenen Verhaltens ist in der berechnungsbedingten gleichmäßigeren Durchfeuchtung des Bodens auf der C1-Fläche zu sehen. Das gleichmäßigere Wasserangebot fördert die mikrobielle Aktivität auf der C1-Fläche (KREUTZER u. ZELLES 1986) und begünstigt die Perkolatation gelöster Stoffe in tiefere Bodenschichten.

Da vor allem die polare Fraktion aufgrund ihrer größeren Hydrophilie und ihres geringeren Molekulargewichtes (vgl. 3.6) einer Verlagerung unterliegen kann, sind die für diese Fraktion erhaltenen geringeren Werte plausibel. Die locker vernetzte, durch schwach zersetztes Nadelmaterial geprägte Struktur der Horizonte LO1 und Of2 ermöglicht eine gute Perkolatation dieser Humushorizonte, was auch die Abnahme der Werte für *weniger polar* in diesen Tiefenstufen erklärt. Im Oh mit seinem hohen Feinhumusgehalt werden die in der weniger polaren Fraktion enthaltenen

WOS wegen ihrer geringeren Hydrophilie und ihres höheren Molekulargewichtes stärker zurückgehalten, was den Anstieg der Werte im Oh bedingen kann.

Der Einfluß der erhöhten mikrobiellen Aktivität ist schwer abzuschätzen, da durch die stärkere Mineralisation eine vermehrte Bildung an WOS erfolgen kann. Andererseits unterliegen auch die gelösten organischen Inhaltsstoffe einem verstärkten Abbau, so daß der Gesamteffekt kaum beurteilt werden kann.

Im gesamten Untersuchungszeitraum ergibt sich auf der C1-Fläche ein ausgeglicheneres Bild der WOS-Gehalte als auf der Kontrollfläche (Abb.4.2), wobei für die letzten beiden Probenahmetermine ein leichter Rückgang der erhaltenen Werte festzustellen ist.

Wie Abb.4.6 zeigt, beeinflußt ein erhöhter Bestandesniederschlag die WOS weitaus deutlicher als das zusätzliche Wasserangebot der ausgebrachten Beregnungen. Dies ist darin begründet, daß der Bestandesniederschlag nur ein Teilaspekt der Jahreswitterung ist, welche insgesamt das mikrobiologische und chemische Geschehen im Waldboden beeinflußt.

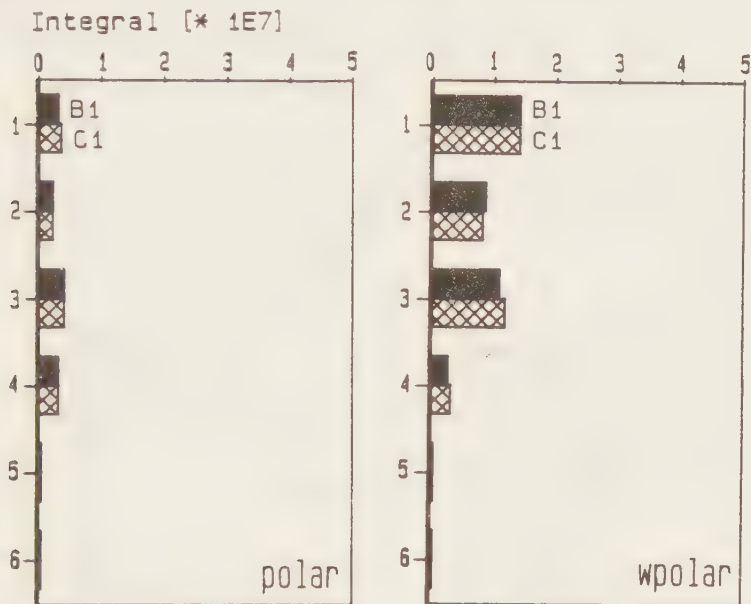
Einfluß der sauren Beregnung; Vergleich C1-B1

Zur Beschreibung des reinen Säureeinflusses auf die WOS wird ein Vergleich der Normalwasserberegnung mit der sauren Beregnung durchgeführt (Abb.4.11).

Es zeigt sich, daß der zusätzliche Eintrag von Säuren in der Tendenz zu einer weiteren, allerdings sehr schwachen und nicht für alle Horizonte beobachtbaren Erniedrigung der Werte für polar u. weniger polar führt. Auch aus Abb.4.6 läßt sich kaum ein Effekt der sauren Beregnung ableiten.

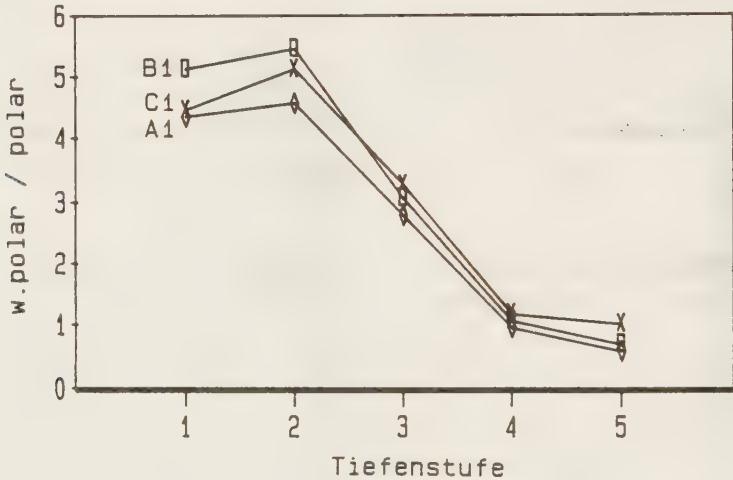
Die Säureeinwirkung zeigt hingegen bei der mikrobiellen Aktivität einen deutlichen Rückgang im Vergleich zur Normalwasserberegnung (KREMPER u. ZELLES 1986), was im Einklang mit Beobachtungen von ABRAHAMSEN et al. (1980) steht.

Abb.4.11: Einfluß der sauren Beregnung auf die Integralwerte von *polar* und *weniger polar*; Mittelwerte aller Termine in den einzelnen Tiefenstufen



Zur Auswirkung von Säurebelastungen auf die organischen Inhaltsstoffe der Bodenlösung werden in der Literatur sehr unterschiedliche Angaben gemacht. So wird sowohl von einer säurebedingten Erhöhung (MATZNER u. THOMA 1983; KRUG u. ISAANSON 1984), als auch von einer Verringerung (CRONAN 1980; HAY et al. 1985) des DOC-Gehaltes der Bodenlösung berichtet. Diese widersprüchlichen Aussagen lassen sich am ehesten durch sich veränderte Bedingungen in Abhängigkeit von der Dauer der Säureeinträge erklären (HOVLAND et al. 1980). Die von CRONAN (1985) gemachte Beobachtung, daß Säurebelastung im DOC eine Verschiebung zu einem höheren hydrophilen Anteil bewirkt, kann in unserem Experiment nicht bestätigt werden (Abb.4.12). Es ist im Höglwald eine Steigerung des weniger polaren Anteiles der WOS durch saure Beregnung in den Horizonten LOf1 und Of2 im Vergleich zur Kontrollfläche festzustellen.

Abb.4.12: Verhältnis $w_{\text{polar}}/\text{polar}$ auf den ungekalkten Versuchsparzellen; Mittelwerte aller Termine in den Tiefenstufen 1 bis 5



Auf B1 wird der Unterschied zwischen baumnah und Zwischenfläche in den Horizonten Of1 und Of2 besonders deutlich, wo im Jahr 1986 auf den baumnahen Probenahmepunkten stets ein höherer weniger polarer Anteil zu beobachten ist.

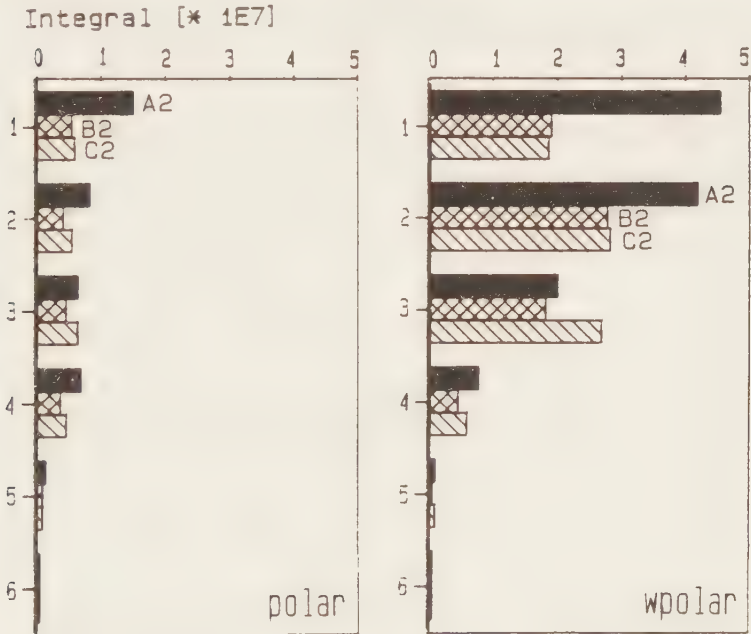
Einfluß der Kombination von Beregnung und Kalkung: die Flächen B2, C2

Auf den Flächen B2 und C2 ist eine Kombination der bereits in ihren Einzeleffekten diskutierten Behandlungen wirksam.

Wie die Zusammenstellung der Zeitverläufe zeigt (Abb.4.2 u. 4.3), ist eine Erhöhung der WOS durch die Kalkung zu beobachten. Der in Abb.4.13 dargestellte Vergleich der Tiefenprofile auf den drei Kalkungsvarianten ergibt für die polare Fraktion das erwartete Bild. Die Beregnung führt zu einer Reduzierung der Werte in den einzelnen Tiefenstufen, wobei für die saure Beregnung niedrigere Werte erhalten werden als für die Normalwas-serberegnung.

Bei der weniger polaren Fraktion ist auf der A2-Fläche das Maximum der WOS-Werte im LOfl-Horizont zu finden, mit einer kontinuierlichen Abnahme in den tieferen Bodenschichten. Auf den Flächen B2 und C2 liegen die WOS-Gehalte in den drei Auflagehorizonten in etwa der gleichen Größenordnung, wobei auf B2 das Maximum im Of2, auf C2 im Oh zu finden ist.

Abb.4.13: Einfluß der Kombination von Beregnung und Kalkung auf die Integralwerte von *polar* und *weniger polar*; Mittelwerte aller Termine in den einzelnen Tiefenstufen

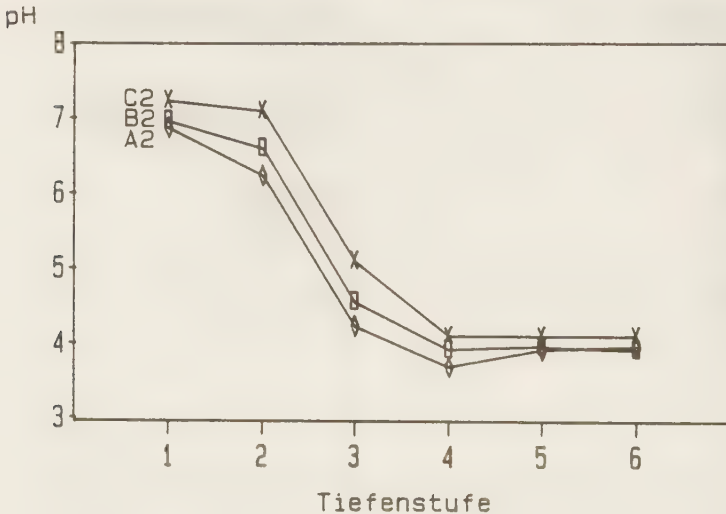


Die nach Untersuchungsjahren getrennte Darstellung der Abb.4.6 ergibt ein detaillierteres Bild. Danach erfährt vor allem die A2-Fläche eine starke Veränderung ihres Verhaltens von 1986 auf 1987, da sie sich im Jahr 1987 in ihrem Tiefenverlauf stark den Flächen B2 und C2 angleicht. 1986 ist für die polare Fraktion auf B2 und C2 eine kontinuierliche Abnahme der Integralwerte mit der Tiefe festzustellen, bei der weniger polaren Fraktion ist das Maximum der Werte im Of2 zu finden. 1987 ergibt sich für *polar* ein uneinheitlicher Tiefenverlauf mit Maximalwerten im Of2, für *weniger polar* liegt auf B2 das Maximum im Of2, auf C2 im Oh.

Aus Abb.4.6 läßt sich schließen, daß 1986 auf den Flächen B2 und C2 vor allem der positive Kalkungseffekt zum tragen kommt, während 1987, bedingt durch den hohen Bestandesniederschlag, der negative Beregnungseffekt, besonders im LOfl-Horizont stärker in Erscheinung tritt.

Ein Zusammenhang zwischen dem Tiefenverlauf der weniger polaren Fraktion und dem pH-Verlauf (Abb.4.14) auf den drei Kalkflächen ist nicht zu erkennen. Der pH-Wert ist somit nur einer unter mehreren, die Löslichkeit der WOS bestimmenden Faktoren.

Abb.4.14: pH-Werte auf den gekalkten Versuchsparzellen; Mittelwerte aller Termine in den einzelnen Tiefenstufen



4.1.2. Statistische Auswertung der Behandlungseffekte

Um aus dem Datenmaterial der Jahre 1986 und 1987 gesicherte Aussagen über den Einfluß der einzelnen Behandlungsvarianten auf die in den Wasserextrakten gelöste organische Substanz zu erhalten, ist die Anwendung statistischer Auswertungsmethoden notwendig. Für unser Auswertungsproblem schien eine Kombination aus Varianzanalyse und simultanen Mittelwertvergleichen ein geeignetes Verfahren zu sein (BAUER 1986).

Die statistischen Berechnungen wurden auf PC mit dem Programmpaket SPSS PC durchgeführt. Der Gang der statistischen Analyse ist im folgenden näher erläutert.

Die Ergebnisse der numerischen Integration des HPLC-Signals für die Fraktionen *polar* und *weniger polar* als abhängige Variable werden, versehen mit einer Codierung der Einflußgrößen Behandlung, Kalkung, Tiefe, Abstand und Datum, in einer Datei abgelegt. Das Codierungsschema ist in Tab.4.1 dargestellt.

Tab.4.1: Codierung der Ergebnisse d. HPLC-Untersuchungen für die statistische Auswertung

Behandlung	Kalk	Tiefe	Abstand	Datum	polar	w.polar
1	1	1	1	9	Wert	Wert
2	2	2	2	bis		
3		3		21		
		4				
		5				
		6				
Codierung:						
Behandlung	BH	1	ohne Bergung			
		2	saure Beregnung			
		3	normale Beregnung			
Kalk	KA	1	ungekalkt			
		2	gekalkt			
Tiefe	TI	1-6	LOf1, Of2, Oh, Ah, 10-20, 30-40			
Abstand	AB	1	Zwischenfläche			
		2	baumnah			
Datum		9-21	Probenahmeterminale			

Da die Methoden der parametrischen Varianzanalyse gleiche, oder zumindest ungefähr gleiche Varianzen in den Zellen voraussetzen, steht am Beginn der Analyse die Frage, ob der zu untersuchende Datensatz dieses Kriterium erfüllt, bzw. ob die Anwendung einer Varianzstabilisierenden Transformation notwendig wird.

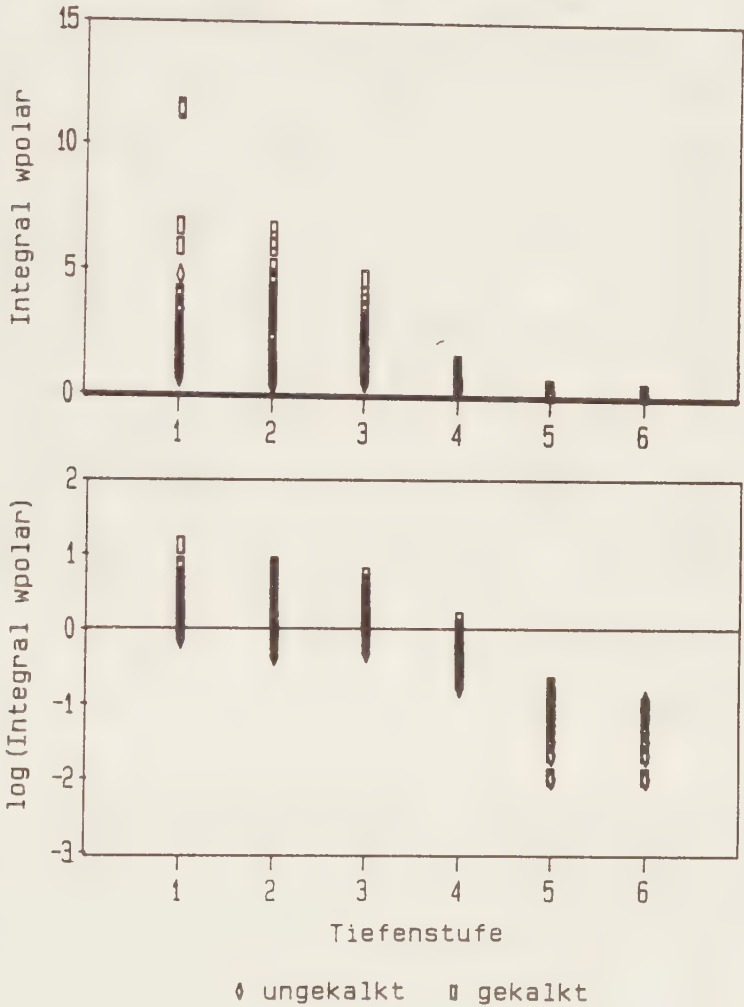
Zum Zweck der Überprüfung auf Varianzhomogenität wird der Datensatz nach den Kriterien Kalk und Tiefe gruppiert und eine Auftragung von Standardabweichung über Mittelwert, bzw. eine graphische Beurteilung der Streuung in den einzelnen Zellen durchgeführt.

Wie Abb.4.15 zeigt, steigt die Streuung der Daten mit steigendem Wert von *polar* bzw. *wpolar* stark an, was bedeutet, daß die Voraussetzung der Varianzhomogenität nicht gewährleistet ist. Als Varianzstabilisierende Transformation bietet sich in diesem Fall eine Logarithmierung der Werte für *polar* und *wpolar* an, wobei die transformierten Variablen *lpol* und *lwpol* entstehen.

Wie in Abb.4.15 zu sehen ist, erbringt die log-Transformation eine Erhöhung der Varianzhomogenität. Trotz der erreichten Verbesserung wird bei der Untersuchung einiger Behandlungseffekte, besonders in Verbindung mit der Variablen Tiefe, die Varianzgleichheit der Zellen nicht erreicht (Cochrans C- und Bartlett-Box-Test in ONEWAY).

Zur Ermittlung des Einflusses der einzelnen Variablen auf die beiden HPLC-Fractionen werden alle möglichen Dreierkombinationen aus Behandlung, Kalkung, Tiefe und Abstand in einer dreifachen Varianzanalyse untersucht (ANOVA in SPSS). Das Ergebnis dieser Analyse ist in Tab.4.2 widergegeben, wobei die obere Zahl den F-Wert, die darunter stehende den Wert für P angibt. Liegt der P-Wert unter 0.05, so hat die Behandlung bzw. Behandlungskombination einen auf dem 95%-Niveau signifikanten Einfluß auf die untersuchte Größe.

Abb.4.15: Einfluß der log-Transformation auf die Streuung der Werte der Fraktion *weniger polar*, gruppiert nach den Einflußgrößen KA u. TI



Tab.4.2: Ergebnisse der dreifachen Varianzanalyse; alle Horizonte 86+87

	Main Effects				Two-way						Three-way
	BH	KA	TI	AB	BH/TI	BH/KA	BH/AB	KA/TI	KA/AB	TI/AB	
lpol by BH/KA/TI	22.50 0.0	104.18 0.00	508.54 0.0		1.36 0.20	3.57 0.03		2.96 0.012			0.55 0.85
lpol by BH/KA/AB	3.21 0.04	14.88 0.00		3.89 0.05		0.51 0.60	0.16 0.85		0.04 0.84		0.15 0.86
lpol by KA/TI/AB		100.21 0.00	489.16 0.0	26.21 0.00				2.85 0.015	0.29 0.59	2.12 0.063	0.88 0.50
lpol by BH/TI/AB	18.38 0.0		415.35 0.0	22.25 0.00	1.11 0.35		0.92 0.40			1.80 0.11	0.19 1.00
lwpol by BH/KA/TI	2.56 0.08	44.05 0.00	424.71 0.0		1.59 0.86	1.27 0.20		2.61 0.03			0.24 0.99
lwpol by BH/KA/AB	0.43 0.65	7.33 0.01		1.61 0.21		0.27 0.77	0.34 0.71		0.15 0.70		0.06 0.94
lwpol by KA/TI/AB		46.10 0.00	444.47 0.0	10.13 0.00				2.73 0.019	0.95 0.33	2.19 0.055	0.25 0.94
lwpol by BH/TI/AB	2.37 0.10		393.29 0.0	8.97 0.00	0.50 0.89		1.90 0.15			1.94 0.088	0.63 0.79

obere Zeile: F-Wert

untere Zeile: P-Wert

Signifikanz wenn $P < 0.05$

Betrachtet man die Variablen einzeln (Main effects), so zeigen Kalk und Tiefe durchweg einen hochsignifikanten Einfluß auf die Werte von *lpol* und *lwpol*. Die Variable Abstand hat in 2 von 3 Kombinationen einen signifikanten Einfluß. Die Behandlung zeigt keine Auswirkung auf die weniger polare Fraktion, wogegen bei der polaren Fraktion für alle 3 Kombinationen signifikante Werte zu erhalten sind. Bei den Zweierkombinationen (two-way) hat nur das Paar Kalk/Tiefe einen durchgehend signifikanten Einfluß auf die org. Substanz. Bei den Dreierkombinationen ergibt sich in keinem Fall eine Signifikanz.

Tab.4.3: Ergebnisse der dreifachen Varianzanalyse; Auflage 86+87

	Main Effects				Two-way						Three-way
	BH	KA	TI	AB	BH/TI	BH/KA	BH/AB	KA/TI	KA/AB	TI/AB	
lpol by BH/KA/TI	15.82 0.00	115.54 0.00	21.32 0.0		1.57 0.18	3.62 0.03		10.40 0.000			0.91 0.46
lpol by BH/KA/AB	12.38 0.00	90.45 0.00		5.94 0.02	2.83 0.06	0.28 0.76		1.01 0.32			0.46 0.63
lpol by KA/TI/AB		100.34 0.00	18.52 0.00	6.59 0.01				9.03 0.000	1.13 0.29	1.23 0.294	0.08 0.92
lpol by BH/TI/AB	9.40 0.00		12.66 0.00	4.51 0.04	0.93 0.45	0.21 0.81			0.84 0.43		0.09 0.98
lwpol by BH/KA/TI	7.06 0.00	276.57 0.00	6.17 0.00		3.91 0.00	3.10 0.04		20.58 0.0			1.61 0.17
lwpol by BH/KA/AB	5.55 0.01	217.40 0.00		7.00 0.01	2.44 0.09	0.44 0.65		0.24 0.63			1.47 0.23
lwpol by KA/TI/AB		249.67 0.00	5.57 0.00	8.04 0.01				18.57 0.000	0.27 0.60	2.32 0.101	0.04 0.96
lwpol by BH/TI/AB	2.73 0.07		2.38 0.10	3.44 0.07	1.51 0.20	0.21 0.81			0.99 0.372		0.05 0.79

obere Zeile: F-Wert

untere Zeile: P-Wert

Signifikanz wenn $P < 0.05$

Aus den Verhältnissen der F-Werte läßt sich eine Reihenfolge der Größe des Einflusses von Behandlung, Kalkung, Tiefe und Baumabstand auf die Variablen *lpol* und *lwpol* aufstellen (Tab.4.4). Dabei zeigt sich, daß der zu untersuchende Datensatz vor allem durch die Einflußgröße Tiefe differenziert wird. Es erscheint daher sinnvoll, zur statistischen Bearbeitung des Datensatzes die Auflagehorizonte zusammenzufassen und im Mineralboden jede Tiefenstufe getrennt zu analysieren (vgl. auch Abb.4.16). Entsprechend Tab.4.2 wird eine dreifache Varianzanalyse für die Auflagehorizonte durchgeführt (Tab.4.3).

Tab.4.4: Reihenfolge der Größe des Einflusses von BH, KA, TI, und AB auf die Variablen *lpol* u. *lwpol*, ausgedrückt durch die Verhältnisse der F-Werte

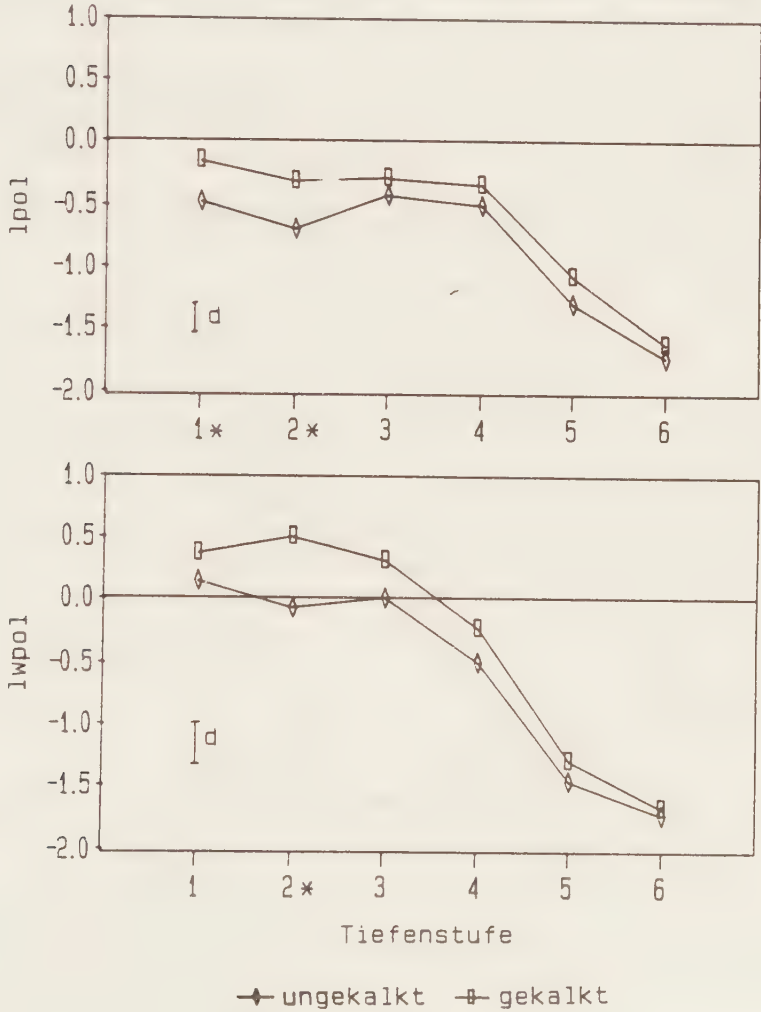
	<i>lpol</i>	<i>lwpol</i>
alle Horizonte	$5.72 \begin{bmatrix} 1.23 \\ 1.18 & 1.04 \end{bmatrix}$ TI >> KA > BH > AB $\begin{bmatrix} \text{L} & 6.75 & \text{J} \\ & 7.02 & \end{bmatrix}$	$5.57 \begin{bmatrix} 1.13 \\ 1.08 & 1.05 \end{bmatrix}$ TI >> KA > BH > AB $\begin{bmatrix} \text{L} & 6.01 & \text{J} \\ & 6.32 & \end{bmatrix}$
nur Auflage	$1.32 \begin{bmatrix} 1.28 \\ 1.12 & 1.15 \end{bmatrix}$ TI > KA > BH > AB $\begin{bmatrix} \text{L} & 1.46 & \text{J} \\ & 1.68 & \end{bmatrix}$	$2.03 \begin{bmatrix} 1.27 \\ 1.14 & 1.11 \end{bmatrix}$ TI > KA > BH > AB $\begin{bmatrix} \text{L} & 2.31 & \text{J} \\ & 2.57 & \end{bmatrix}$

Aus Tab.4.3 ergibt sich, daß im weiteren Verlauf der statistischen Analyse bei Betrachtung der zusammengefaßten Auflagehorizonte alle Main Effects und auch die für die Beurteilung der experimentellen Behandlung wichtige Zweierkombination BH/KA einen signifikanten Einfluß auf den Datensatz aufweisen.

Im nächsten Schritt der statistischen Analyse werden für die in ANOVA als signifikant ausgewiesenen Behandlungseffekte die Mittelwertsunterschiede durch Tukeys Methode der multiplen Zellenvergleiche berechnet (ONEWAY in SPSS).

Dabei wird zunächst die Zweierkombination KA/TI aus Tab.4.2 untersucht. In Abb.4.16 sind die Verläufe der Mittelwerte der Variablen *lpol* und *lwpol* in Abhängigkeit von der Tiefe dargestellt. Gleichzeitig wurde in die Diagramme die kritische Mittelwertsdifferenz *d* eingetragen. Alle Punkte, deren vertikaler Abstand größer als *d* ist, sind auf dem 95%-Niveau signifikant verschieden.

Abb.4.16: Simultane Mittelwertvergleiche der Kombination KA/TI mit Eintragung der kritischen Mittelwertsdifferenz d ; in den mit * gekennzeichneten Horizonten ist der Unterschied zwischen "gekalkt" und "nicht gekalkt" auf dem 95%-Niveau signifikant



Es zeigt sich, daß die 1984 oberflächlich ausgebrachte Kalkung in allen Tiefenstufen, besonders in der Auflage, eine Erhöhung der Werte für *lpol* und *lwpol* bewirkt. Statistisch abgesichert ist diese Mobilisierung bei der Variablen *lpol* in den Horizonten 1 und 2, bei der Variablen *lwpol* nur in der Tiefenstufe 2.

Für die Beurteilung der experimentellen Behandlung sind die in Tab.4.5 dargestellten Ergebnisse der multiplen Zellenvergleiche für die Zweierkombination BH/KA in den Auflagehorizonten von besonderem Interesse.

Tab.4.5: Multiple Zellenvergleiche Behandlung-Kalkung (nur für die Auflagehorizonte); * = signifikant verschieden auf dem 95%-Niveau

LPOL

BH KA	1 1	2 1	3 1	1 2	2 2	3 2	Mittel- wert
1 1							-0.5027
2 1							-0.5977
3 1							-0.5643
1 2	*	*	*		*	*	-0.1191
2 2		*	*				-0.3884
3 2	*	*	*				-0.2925

LWPOL

BH KA	1 1	2 1	3 1	1 2	2 2	3 2	Mittel- wert
1 1							0.0328
2 1							-0.0032
3 1							0.0164
1 2	*	*	*		*		0.4882
2 2	*	*	*				0.3157
3 2	*	*	*				0.3796

Bei allen drei Behandlungsvarianten bewirkt der zusätzliche Einfluß der Kalkung eine signifikante Erhöhung der Werte für *lpol* und *lwpol*. Der Einfluß der Behandlung ist nur beim Vergleich der Flächen A2 und B2 in einer signifikanten Verringerung der erhaltenen Werte durch die saure Beregnung statistisch abgesichert. Für die Variable *lpol* bringt auch die Normalwasserberegnung eine signifikante Erniedrigung des Mittelwertes auf der Fläche C2 im Vergleich zu A2.

Im Anschluß an die Zweierkombinationen KA/TI und BH/KA sollen nun die einzelnen Einflußgrößen (Main Effects) mit der Methode der multiplen Mittelwertvergleiche untersucht werden. Dabei werden die Auflagehorizonte zur Erhöhung der Zellenbesetzung zusammengefaßt, die Mineralbodenhorizonte aufgrund des starken Einflusses der Größe TI nach Tiefenstufen getrennt bearbeitet (Tab.4.6).

Die Variable Behandlung, d.h. die Varianten der Beregnung, zeigt sowohl für die polare, als auch für die weniger polare Fraktion die gleiche Tendenz, nämlich eine Verringerung der Integralwerte durch den zusätzlichen Wassereintrag und die dadurch bedingte stärkere Perkolation auf den beregneten Flächen. Statistisch absicherbar ist dieser Behandlungseffekt nur bei der Variablen *lpol*. In der Auflage sind sowohl auf den sauer, als auch auf den normal beregneten Flächen die Werte für *lpol* signifikant niedriger als auf den unberegneten Parzellen. In den Mineralbodenhorizonten sind Behandlungseffekte bis in 30-40cm Tiefe nachzuweisen, wobei in großer Tiefe die Normalwasserberegnung signifikant niedrigere Werte erbringt.

Die Kalkung führt, vor allem in den Auflagehorizonten, zu einem Anstieg der gelösten organischen Substanz. Diese Mobilisierung organischer Stoffe ist bei *lpol* bis Tiefenstufe 5, bei *lwpol* bis Horizont 4 statistisch absicherbar.

Der Baumabstand hat keinen signifikanten Einfluß auf die beiden HPLC-Fractionen. Es ergeben sich aber in der Tendenz höhere Werte für die baumnahen Probenahmepunkte.

Erwartungsgemäß nimmt der Gehalt an org. Substanz mit der Tiefe ab, wobei sich die häufig beobachtete Depression der Werte im Of2-Horizont für die polare Fraktion statistisch absichern läßt .

Tab.4.6: Multiple Zellenvergleiche; Auflage- u. Mineralbodenhorizonte

Tiefe	Variable	LPOL				LWPOL			
		Mittel	d	signif. Varianz	Versch. homogen	Mittel	d	signif. Varianz	Versch. homogen
1 bis	BH 1	-0.3109	0.1055	1/2	nein	0.2605	0.1066	—	ja
	2	-0.4931		1/3		0.1563			
	3	-0.4284				0.1980			
3	KA 1	-0.5549	—	1/2	ja	0.0153	—	1/2	ja
	2	-0.2667				0.3945			
	TI 1	-0.3302	0.1040	1/2	nein	0.2505	0.1068	—	nein
	2	-0.5325		2/3		0.2112			
	3	-0.3697				0.1530			
	AB 1	-0.4477	—	—	ja	0.1709	—	—	ja
	2	-0.3738				0.2389			
4	BH 1	-0.3456	0.1225	1/2	ja	-0.3351	0.1442	—	ja
	2	-0.5318				-0.4748			
	3	-0.4609				-0.3785			
	KA 1	-0.5392	—	1/2	ja	-0.5411	—	1/2	ja
	2	-0.3530				-0.2511			
	AB 1	-0.4867	—	—	ja	-0.4462	—	—	ja
	2	-0.4461				-0.3460			
5	BH 1	-1.1609	0.1862	1/3	ja	-1.5721	0.4884	—	ja
	2	-1.3021				-1.7842			
	3	-1.3540				-1.6135			
	KA 1	-1.3958	—	1/2	ja	-1.7907	—	—	ja
	2	-1.1489				-1.5225			
	AB 1	-1.3911	—	1/2	ja	-1.8764	—	—	ja
	2	-1.1536				-1.4368			
6	BH 1	-1.8395	0.3150	1/3	ja	-2.2428	0.5417	—	ja
	2	-2.0620				-2.2938			
	3	-2.1885				-2.4365			
	KA 1	-2.1385	—	—	ja	-2.3461	—	—	ja
	2	-1.9214				-2.3026			
	AB 1	-2.1472	—	—	ja	-2.3600	—	—	ja
	2	-1.9128				-2.2887			

4.1.3. Kurze Zusammenfassung der Behandlungseffekte

Auf den Versuchsparzellen des Höglwaldprojektes sind neben den Versuchsparametern Kalkung und Behandlung auch die naturgegebenen Einflußgrößen Tiefe und Baumabstand zu berücksichtigen. Dabei zeigt sich, daß die Tiefe den größten Einfluß auf die Werte der beiden Fraktionen *polar* u. *weniger polar* ausübt, wobei die WOS-Werte in der Regel mit zunehmender Bodentiefe geringer werden. Auf den baumnahen Probestellen werden höhere WOS-Werte gefunden als auf der Zwischenfläche. Diese Erhöhung ist aber in keinem Fall signifikant.

Von den verschiedenen Versuchsparametern hat die Kalkung den größten Einfluß auf die WOS. Die von ihr hervorgerufene Erhöhung der Integralwerte ist bei der Fraktion *polar* bis in 10–20cm Tiefe, bei der Fraktion *weniger polar* bis in den Ah-Horizont statistisch abgesichert. Auf den gleichzeitig berechneten Flächen B2 u. C2 ist die kalkungsbedingte Mobilisierung aufgrund des zusätzlichen Wassereintrages deutlich geringer als auf A2.

Der Einfluß der Beregnung tritt auf den gekalkten Versuchsparzellen wesentlich deutlicher in Erscheinung als auf den ungekalkten Flächen. Eine getrennte Betrachtung der Untersuchungsjahre 1986 und 1987 ergibt, daß 1986 vor allem der positive Kalkungseffekt zum Tragen kommt, während 1987, bedingt durch den erhöhten Bestandesniederschlag, der negative Beregnungseffekt stärker hervortritt. Die Trennung von "Säureeffekt" und "Wassereffekt" ergibt, daß beide eine Verringerung der WOS bewirken, wobei sich der Einfluß des zusätzlichen Wasserangebotes stärker auswirkt als der Säureeintrag.

Neben den Einflüssen der experimentellen Behandlung auf die beiden HPLC-Fractionen ergibt sich auf allen sechs Versuchsparzellen im Untersuchungszeitraum eine Verschiebung des Verhältnisses von *weniger polar* zu *polar* hin zu einem höheren polaren Anteil. Dieser dem Versuch übergeordnete Zeittrend ist wahrscheinlich klimatisch bedingt.

4.2. Einfluß des pH-Wertes auf die WOS

Aufgrund der Fülle der erhobenen Daten und der durch die Behandlungsvarianten bedingten Veränderungen der Bodenchemie lassen sich die bisher diskutierten Ergebnisse der HPLC-Untersuchungen auch mit Ergebnissen der anorganisch-chemischen Analytik in Beziehung setzen.

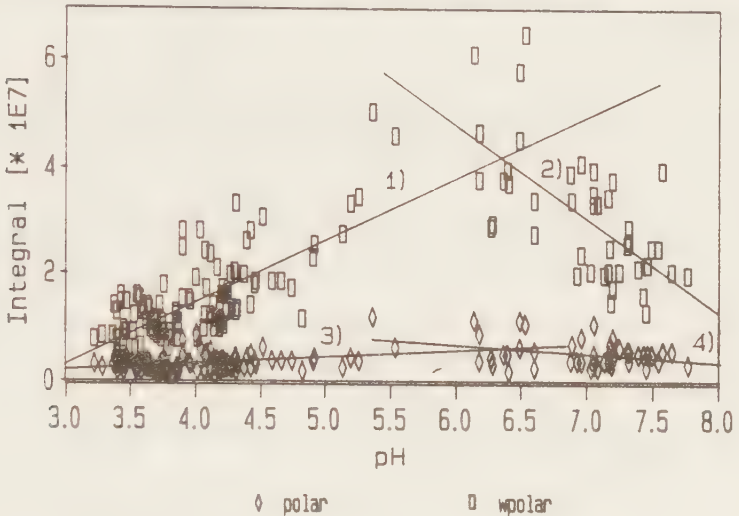
4.2.1. Gehalt an WOS in Abhängigkeit vom pH-Wert

Prinzipiell hängt die Löslichkeit organischer Bodeneinhaltsstoffe von der pH-abhängigen Protonierung bzw. Deprotonierung acider funktioneller Gruppen ab. So wurde bei Säurebehandlung eine leichte Verringerung (CROWAN 1980; HAY et al. 1985), bei Kalkung eine Erhöhung (LAMERSDORP u. KÖNIG 1985) des C-Gehaltes in der Bodenlösung beobachtet (siehe Kap.4.1.).

Durch die große Anzahl der Probenahmen ist in dieser Arbeit eine detailliertere Untersuchung des Zusammenhanges zwischen pH-Wert und DOC möglich. In Abb.4.17 ist die UV-Absorption der polaren und weniger polaren HPLC-Fraktion als Maß für den DOC (vgl. 3.5.) in Abhängigkeit vom pH-Wert des Wasserextraktes dargestellt. Für diese Auswertung werden ausschließlich die Daten des Untersuchungsjahres 1986 verwendet, da im Jahr 1987, bedingt durch den stark erhöhten Bestandesniederschlag, weniger repräsentative und auch stärker streuende Integralwerte erhalten wurden.

Es zeigt sich ein Maximum des organischen C-Gehaltes bei einem pH von 6.0-6.5, wobei vor allem die weniger polare Fraktion zu diesem Verhalten beiträgt. Eine ähnliche Beobachtung wurde von YOUNG und BACHE (1985) gemacht, die für Sättigungsextrakte aus Ackerböden ein Maximum der gelösten organischen Substanz bei pH 6.4 fanden. Bei diesem pH-Wert liegen auch die Schnittpunkte der beiden Ausgleichsgeraden für die Fraktionen *polar* und *weniger polar* in Abb.4.17.

Abb.4.17: pH-Abhängigkeit der HPLC-Fractionen; Werte des Untersuchungs-jahres 1986



Ausgleichsgeraden:

- 1) $y = -3.084 + 1.138 \cdot x$
- 2) $y = 14.892 - 1.659 \cdot x$
- 3) $y = -0.177 + 0.118 \cdot x$
- 4) $y = 1.452 - 0.137 \cdot x$

Der pH-Bereich maximaler DOC-Werte fällt zusammen mit dem pH-Bereich minimaler Adsorption von Fulvo- und Huminsäuren an Tonminerale (EVANS u. RUSSELL 1959). In Zusammenhang mit der eben zitierten Tonmineraladsorption könnte das unterschiedliche Verhalten der beiden HPLC-Fractionen zumindest teilweise erklärt werden. Nach KÖNIG (1985) werden höhermolekulare Huminstoffe erheblich besser an mineralische Oberflächen adsorbiert als niedermolekulare Humusstoffe. Da die weniger polare Fraktion ein höheres durchschnittliches Molekulargewicht besitzt (vgl. Kapitel 3.6.), wird besonders diese Fraktion auf die pH-abhängige Veränderung der Adsorptionsverhältnisse reagieren.

Da in den Auflagehorizonten allerdings kaum mineralische Oberflächen vorhanden sind, kann der oben diskutierte Zusammenhang keinen wesentlichen Einfluß auf die pH-abhängige Löslichkeit organischer Bodenhaltssstoffe ausüben. Es werden im folgenden Kapitel daher weitere Überlegungen zur Erklärung des beobachteten Verhaltens angestellt.

4.2.2. Computersimulation der pH-abhängigen Löslichkeit organischer Säuren

Das Lösungsverhalten eines hypothetischen Makromoleküls, welches acide Gruppen enthält, läßt sich wie folgt beschreiben.

Bei Zugabe einer Säure werden dissoziierte Carboxylgruppen zunehmend protoniert und die Ladung und somit auch die Löslichkeit des Moleküls herabgesetzt.

Die Zugabe einer Base erhöht entsprechend die Löslichkeit dieser Verbindung. Ist wie bei einer Kalkung die Erhöhung des pH-Wertes mit der Freisetzung eines fällend wirkenden Kations verbunden, so kann mit zunehmender Calciumionenfreisetzung eine Herabsetzung der Löslichkeit des aciden Makromoleküls erfolgen.

Zur Überprüfung dieser Erklärung für das im Freilandexperiment beobachtete Verhalten wurde ein Computersimulationsmodell eingesetzt. Das verwendete Modell stützt sich auf physikalisch-chemische Grundlagen (HUMMEL/MOORE 1976) die im folgenden kurz erläutert werden sollen.

Sowohl die Kinetiken, als auch die Konzentrationen einzelner Komponenten komplexer Reaktionsfolgen sind aufgrund von Rückkopplungseffekten nicht mathematisch exakt lösbar. Zur Berechnung dieser Systeme ist deshalb die Anwendung von Iterationsverfahren notwendig. Im vorliegenden Fall wurde ein kinetisches Gleichgewichtsmodell eingesetzt, welches die Hin- und Rückreaktion eines chemischen Gleichgewichtes getrennt betrachtet.

Nach dem Prinzip von Guldberg und Waage setzt sich die Gleichgewichtskonstante einer chemischen Reaktion aus je einer Geschwindigkeitskonstanten für die Hin- und die Rückreaktion zusammen.

$$\begin{array}{ccc}
 K & & \\
 \text{AB} \rightleftharpoons \text{A} + \text{B} & K = & \frac{k_{\text{hin}}}{k_{\text{rück}}} \quad (1)
 \end{array}$$

Befindet sich das chemische System im Gleichgewicht, so ist die Geschwindigkeit der Hinreaktion gleich der Geschwindigkeit der Rückreaktion, d.h. die Zahl der aus A+B gebildeten, als auch der zerfallenden Moleküle AB ist gleich groß. Im Falle eines Ungleichgewichtes sind die Geschwindigkeiten der Hin- und Rückreaktion so lange verschieden, bis sich ein neuer Gleichgewichtszustand eingestellt hat.

Im volumen- und temperaturkonstanten System ist die Reaktionsgeschwindigkeit v einer einseitig verlaufenden chemischen Reaktion durch die Abnahme der Edukte bzw. die Zunahme der Produkte in der Zeiteinheit definiert.

$$\text{AB} \rightarrow \text{A} + \text{B} \quad v = - \frac{d\text{AB}}{dt} = + \frac{d\text{A}}{dt} = + \frac{d\text{B}}{dt} \quad (2)$$

$$\text{AB} \leftarrow \text{A} + \text{B} \quad v = + \frac{d\text{AB}}{dt} = - \frac{d\text{A}}{dt} = - \frac{d\text{B}}{dt}$$

Gehorcht die Hinreaktion einem Zeitgesetz erster Ordnung und die Rückreaktion einem Zeitgesetz zweiter Ordnung, so kann bezogen auf den Reaktionspartner AB folgende Beziehung für die Hin-, Rück- und Gesamtreaktion aufgestellt werden.

$$\begin{array}{ll} \text{Hinreaktion} & - \frac{d\text{AB}}{dt} = k_{\text{hin}} \cdot [\text{AB}] \\ \text{Rückreaktion} & + \frac{d\text{AB}}{dt} = k_{\text{rück}} \cdot [\text{A}] [\text{B}] \\ \text{Gesamtreaktion} & \frac{d\text{AB}}{dt} = k_{\text{rück}} \cdot [\text{A}] [\text{B}] - k_{\text{hin}} \cdot [\text{AB}] \end{array} \quad (3)$$

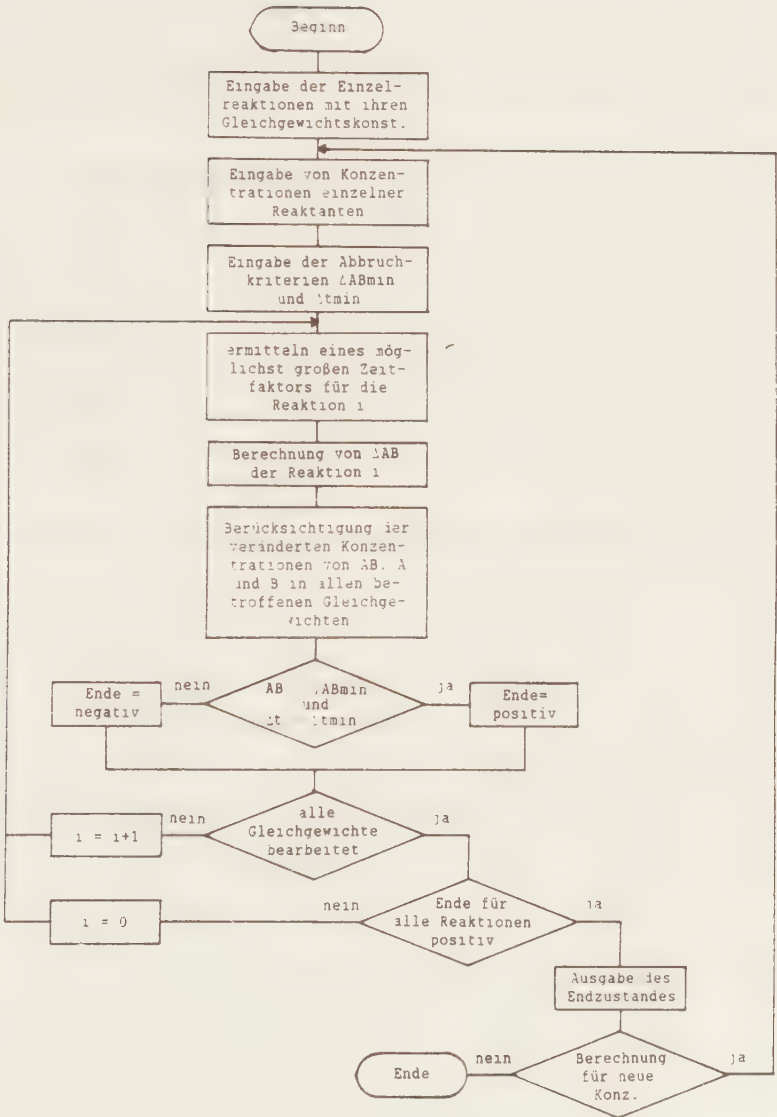
Für endliche Zeitintervalle ergibt sich daraus

$$\Delta \text{AB} = (k_{\text{rück}} \cdot [\text{A}] [\text{B}] - k_{\text{hin}} \cdot [\text{AB}]) \Delta t \quad (4)$$

Auf Gleichung (4) basiert das verwendete Computersimulationsmodell, wobei noch einige vereinfachende Annahmen gemacht wurden. Die getrennten Geschwindigkeitskonstanten der Hin- und Rückreaktion sind nur selten bekannt. Deshalb wurde nach Gleichung (1) die Konstante $k_{\text{rück}}$ gleich 1 gesetzt, so daß die Konstante k_{hin} gleich der Gleichgewichtskonstanten K wird, die für viele Reaktionen in Tabellenwerken verfügbar ist. Diese Annahme erscheint zulässig, da alle Rückreaktionen Ionenreaktionen sind (vgl. Tab.4.5). Das Zusammentreffen zweier ionischer Reaktionspartner in einer Lösung ist für alle Teilreaktionen gleich wahrscheinlich, so daß alle $k_{\text{rück}}$ -Werte in der gleichen Größenordnung liegen.

Sind mehrere Gleichgewichte miteinander verknüpft, so bestimmt die langsamste Reaktion die Gesamtgeschwindigkeit. Um die Rechenzeit des Computermodelles zu verkürzen wurde deshalb für jede Einzelreaktion eine eigene, möglichst große Zeitkonstante Δt gewählt. Dies bedeutet, daß das Zustreben der Einzelreaktionen in den Gesamtgleichgewichtszustand nicht den wahren Verhältnissen entspricht, da die unterschiedlichen Teilreaktionen mit verschiedenen Zeitskalen ablaufen. Das sich einstellende Gesamtgleichgewicht entspricht aber trotz dieser zeitlichen Raffung einzelner Reaktionen den natürlichen Verhältnissen, da die Zeitkonstanten Δt bei kleinen ΔAB -Werten bis zur Erreichung eines gemeinsamen Grenzwertes reduziert werden. Es würde zu weit führen alle Einzelschritte des Simulationsmodelles eingehend zu erläutern. In Abb.4.18 ist deshalb in einem Flußdiagramm der Ablauf der Berechnungen in seinen wesentlichen Teilen schematisch dargestellt.

Abb.4.18: Flußdiagramm der kinetischen Gleichgewichtssimulation



Für die Simulation einer pH-Erhöhung bzw. -Erniedrigung auf gelöste organische Stoffe wurde eine Konzentration von 10^{-3} mol/l eines hypothetischen Humusstoffes angenommen, dessen pKa-Wert für die erste Dissoziationsstufe 3.6 und für die zweite Stufe 4.2 beträgt. Diese Ausgangswerte für einen hypothetischen Huminstoff liegen im Rahmen der Literaturdaten (THURMAN 1985).

In den Abb.4.19 bis 4.21 ist die Auswirkung einer Versauerung mit HCl in Verbindung mit einer pH-Erhöhung durch NaOH, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ und CaCO_3 auf die miteinander im Gleichgewicht stehenden Spezies H_2A , HA^- , A^{2-} und CaA (A= Huminstoffgerüst) dargestellt. Für die Bildung des Calciumkomplexes CaA wurde eine mittlere Stabilitätskonstante von 10^3 angenommen (SCHNITZER u. HANSEN 1970; SCHNITZER u. SKINNER 1967), die übrigen Gleichgewichtskonstanten wurden einschlägigen Tabellenwerken entnommen (WEAST 1983; SILLEN u. MARTELL 1964) (Tab.4.7). Der CO_2 -Partialdruck der Atmosphäre und die Aktivitäten der einzelnen Reaktanten wurden bei den Berechnungen vernachlässigt.

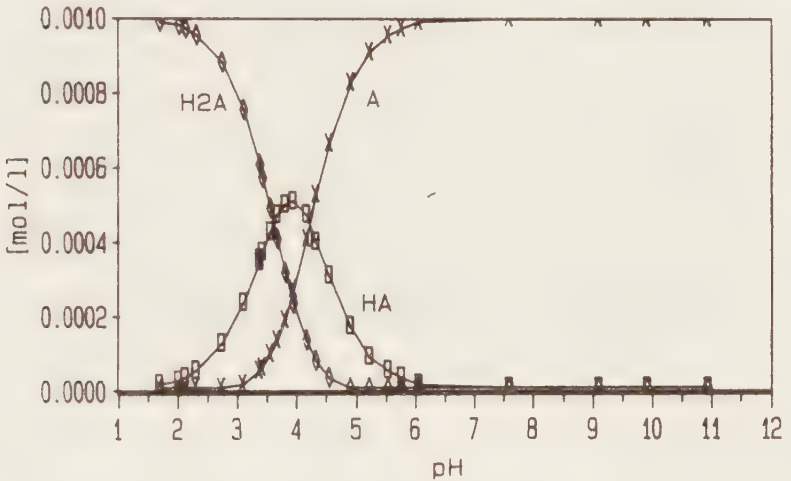
Tab.4.7: Teilreaktionen der Modellrechnungen und ihre Gleichgewichtskonstanten

Modell	Gleichung	K (Lp)
alle	$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H} + \text{OH}$	$1.83 \cdot 10^{-16}$
	$\text{H}_2\text{A} \rightleftharpoons \text{HA} + \text{H}$	$2.51 \cdot 10^{-4}$
	$\text{HA} \rightleftharpoons \text{A} + \text{H}$	$6.31 \cdot 10^{-5}$
NaOH	$\text{NaOH} \rightleftharpoons \text{Na} + \text{OH}$	$1.00 \cdot 10^{-2}$
$\text{Ca}(\text{OH})_2$	$\text{Ca}(\text{OH})_2 \rightleftharpoons \text{CaOH} + \text{OH}$	$3.72 \cdot 10^{-3}$
	$\text{CaOH} \rightleftharpoons \text{Ca} + \text{OH}$	$3.98 \cdot 10^{-2}$
	$\text{CaA} \rightleftharpoons \text{Ca} + \text{A}$	$1.00 \cdot 10^{-3}$
CaCO_3	$\text{CaCO}_3 \rightleftharpoons \text{Ca} + \text{CO}_3$	$6.30 \cdot 10^{-4}$ ($4.70 \cdot 10^{-9}$)
	$\text{Ca}(\text{OH})_2 \rightleftharpoons \text{CaOH} + \text{OH}$	$3.72 \cdot 10^{-3}$
	$\text{CaOH} \rightleftharpoons \text{Ca} + \text{OH}$	$3.98 \cdot 10^{-2}$
	$\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3 + \text{H}$	$4.30 \cdot 10^{-7}$
	$\text{HCO}_3 \rightleftharpoons \text{CO}_3 + \text{H}$	$5.61 \cdot 10^{-11}$
	$\text{CaA} \rightleftharpoons \text{Ca} + \text{A}$	$1.00 \cdot 10^{-3}$

(A= Huminstoffgerüst)

Bei Zugabe einer starken, nicht fällend wirkenden Base (NaOH) sind im pH-Bereich oberhalb von 6.0 die aciden Gruppen des hypothetischen Huminstoffmoleküles vollständig dissoziiert (Abb.4.19).

Abb.4.19: Konzentrationen der Spezies H_2A , HA^- u. A^{2-} in Abhängigkeit vom pH-Wert; pH-Erhöhung mit NaOH, pH-Erniedrigung mit HCl, ausgehend von einer 10^{-3} molaren H_2A -Lösung



Wird zur pH-Erhöhung $Ca(OH)_2$ verwendet, so ist im pH-Bereich von 5.5 bis 10 ein plateauartiges Maximum der A^{2-} -Konzentration festzustellen. Die Menge an A^{2-} beträgt hier ca. 62% der Gesamthuminstoffkonzentration, 38% liegen als Calciumkomplex CaA vor. Gerade dieser pH-Bereich wird bei der $Ca(OH)_2$ -Zugabe äußerst schnell durchlaufen, was aus Abb.4.20 ersichtlich ist.

Dies bedeutet, daß sich ein reales System aus Huminsäure und $Ca(OH)_2$ bevorzugt im pH-Bereich 3.4 bis 5 oder in einem Bereich oberhalb von pH 10 befindet. Der dazwischenliegende Neutralisationsbereich ist aufgrund der Steilheit der Kurve in Abb.4.20b sehr unwahrscheinlich.

In Abb.4.21 wurde $CaCO_3$ als Base verwendet. Die deprotonierte Humus-säure (A^{2-}) erreicht hier ihre maximale Konzentration von 58% bei einem pH-Wert von 5.6. Auch bei dieser Simulationsvariante fällt das Maximum

der A^{2-} -Konzentration in den Bereich größter Steigung der pH-Kurve (Abb.4.20b). Ein System aus Huminsäure und $CaCO_3$ befindet sich deshalb bevorzugt in den pH-Bereichen 3.4 bis 4.5 bzw. 6.0 bis 7.8. Die obere pH-Grenze bei 7.8 ist durch das Löslichkeitsprodukt von $CaCO_3$ bestimmt.

Der Vergleich der pH-Abhängigkeit der A^{2-} -Konzentration im Simulationsmodell und der in der Praxis erhaltenen pH-Abhängigkeit der UV-Absorption (Abb.4.17) zeigt schon eine recht gute Übereinstimmung.

In den bisher vorgestellten Simulationen wurde davon ausgegangen, daß sich alle Reaktanten in Lösung befinden. Diese Annahme ist sicher nicht realistisch, da sowohl die protonierte Huminsäure H_2A , als auch deren Calciumkomplex CaA eine nicht sehr große Löslichkeit besitzen.

Aus diesem Grund wurde das Simulationsmodell in einer Weise erweitert, daß die maximale Löslichkeit eines Reaktanten berücksichtigt werden kann. Da keine exakten Werte für Löslichkeiten bzw. Löslichkeitsprodukte von Huminsäuren und deren Ca-Komplexen existieren, werden diese aus älteren Angaben zur prozentualen Löslichkeit von Humaten (PURI u. SARUP 1938, SCHNEPPER/UHLIRCH 1960) mit Hilfe des Computermodell abgeleitet. Dabei errechnet sich für die vollständig protonierte Humussäure H_2A eine Löslichkeit von $2.36 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$. Der Wert für den Calciumkomplex CaA beträgt $3.16 \cdot 10^{-4} \text{ mol/l}$.

In Abb.4.22a zeigt die Summenkurve der Huminstoffspezies H_2A , HA^- , A^{2-} u. CaA bei Anwendung des erweiterten Modelles eine maximale Lösungskonzentration organischer Stoffe im pH-Bereich von 3.8 bis 4.6. Da dieser pH-Bereich im Vergleich zu den Freilandbeobachtungen zu niedrig liegt, wurden in einer weiteren Simulation die Säurekonstanten der Huminsäure um eine Zehnerpotenz erniedrigt (Abb.4.22b). Dadurch verschiebt sich das Maximum der Summenkurve in den pH-Bereich von 5.0 bis 5.5, was dem in Abb.4.17 gezeigten Verhalten schon recht nahe kommt.

Abb.4.20: a: Konzentrationen der Spezies H_2A , HA^- , A^{2-} u. CaA in Abhängigkeit vom pH-Wert; pH-Erhöhung mit $\text{Ca}(\text{OH})_2$, weitere Parameter identisch zu Abb.4.18; b: Abhängigkeit des pH-Wertes von der Menge an zugegebenem $\text{Ca}(\text{OH})_2$

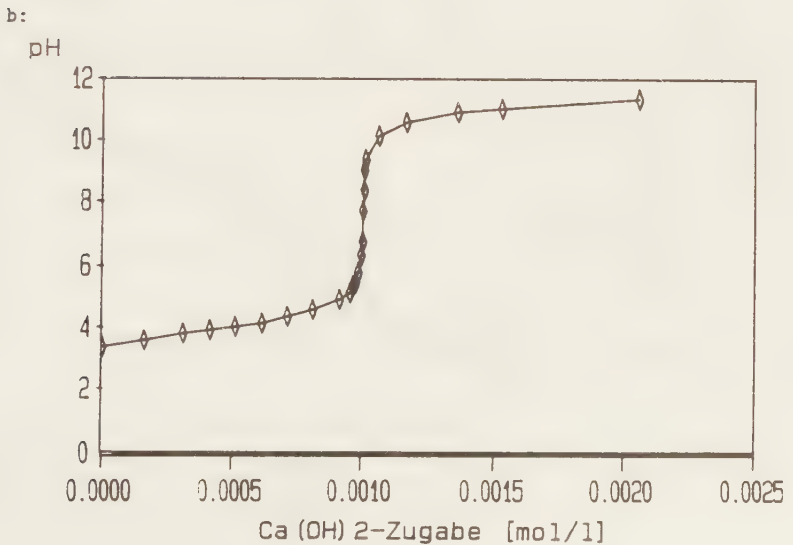
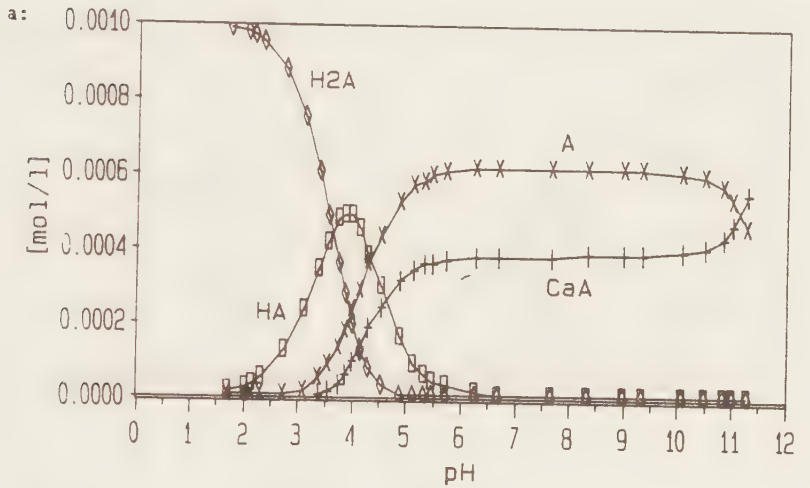


Abb.4.21: a: Konzentrationen der Spezies H_2A , HA^- , A^{2-} u. CaA in Abhängigkeit vom pH-Wert; pH-Erhöhung mit CaCO_3 , weitere Parameter identisch zu Abb.4.18; b: Abhängigkeit des pH-Wertes von der Menge an zugegebenem CaCO_3

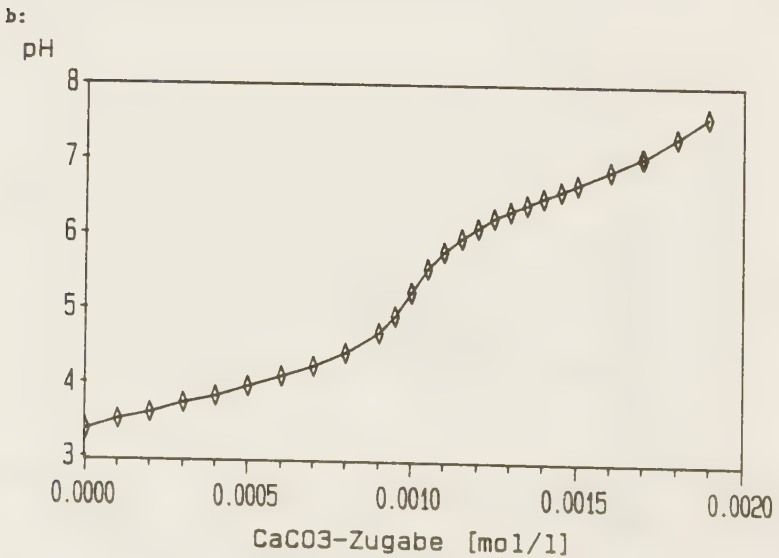
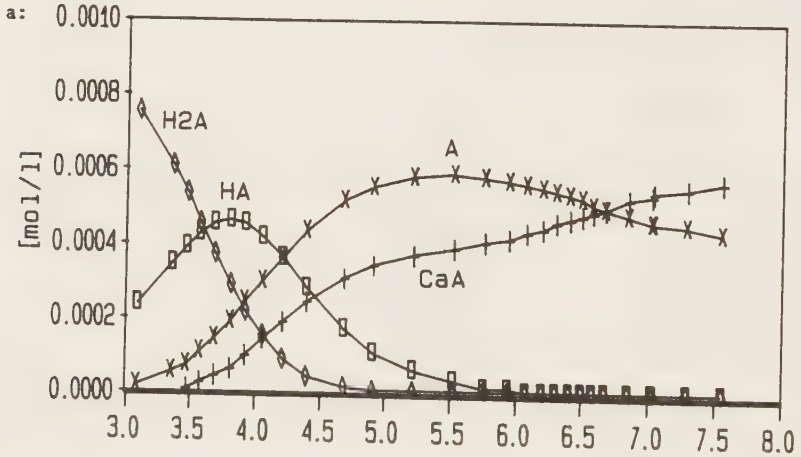
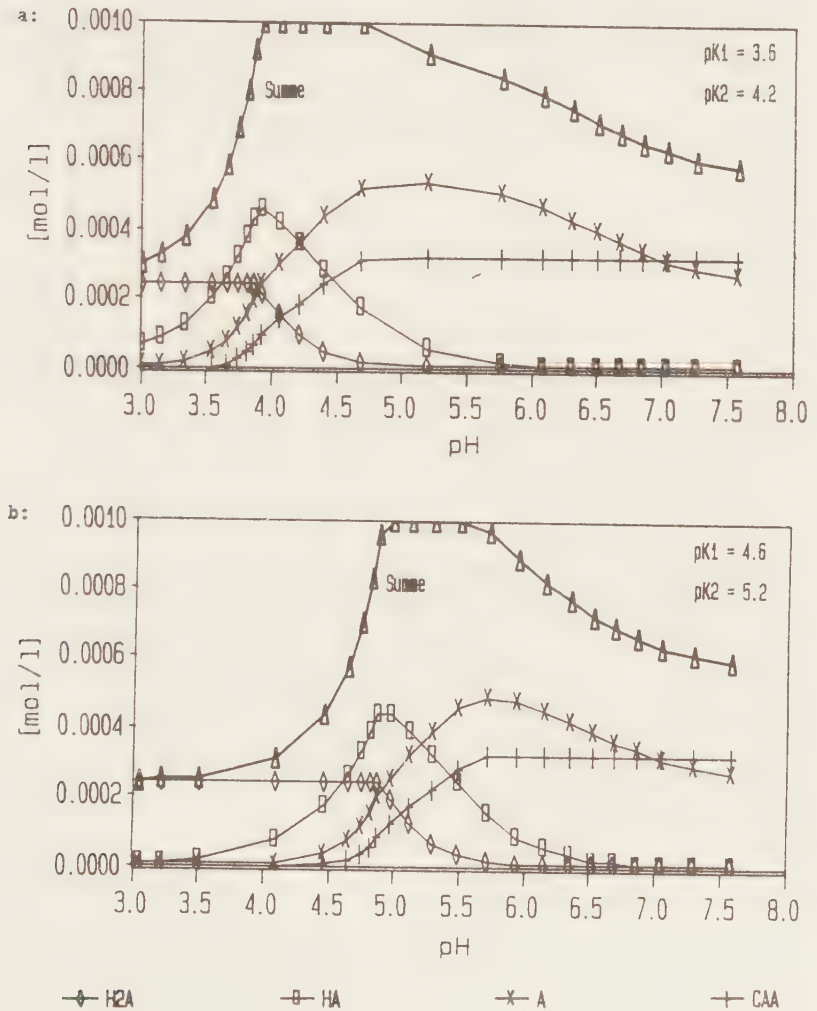


Abb.4.21: a: Konzentrationen der Spezies H_2A , HA^- , A^{2-} u. CaA in Abhängigkeit vom pH-Wert; pH-Erhöhung mit CaCO_3 unter Berücksichtigung der Löslichkeit von H_2A und CaA mit Darstellung der Summe gelöster Huminstoffspezies; Säurekonstanten a: $\text{pK}_1=3.6$, $\text{pK}_2=4.2$ b: $\text{pK}_1=4.6$, $\text{pK}_2=5.2$



4.3. Komplexierungsverhalten der WOS

Die organischen Inhaltsstoffe der Wasserextrakte sind aufgrund ihres Gehaltes an funktionellen Gruppen in der Lage Metallionen zu komplexieren. Sie sind somit ein bestimmender Faktor für die Löslichkeit von Eisen, Aluminium, Spurenelementen und Schwermetallen und beeinflussen die Verwitterung von Mineralen, sowie Transport bzw. Verlagerung von Metallionen in der Bodenlösung (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982).

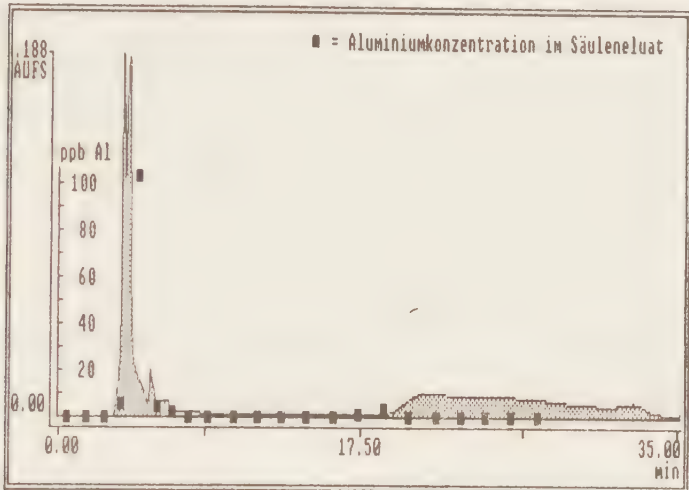
4.3.1. Versuche zur Al-Komplexierung

Freie Al^{3+} -Ionen im Boden besitzen eine toxische Wirkung auf Pflanzenwurzeln (ROST-SIEBERT 1983, 1985; HÖTTERMANN 1983). Diese Aluminiumtoxizität kann von Huminstoffen durch die Bildung metallorganischer Komplexe reduziert werden (HUE et al. 1986, TAN u. BONGER 1986).

Da Aluminium in der Auflage und im Ah-Horizont in hohem Maße komplexiert ist (vgl. Tab.4.9; GARDNER et al. 1987), ist es interessant festzustellen, welche der beiden HPLC-Fractionen zur Komplexierung von Al beiträgt. Zur Klärung dieser Frage wurde das Säuleneluat des HPLC-Laufes mit einem Fraktionssammler aufgefangen und anschließend am Graphitrohr-AAS auf den Aluminiumgesamtgehalt untersucht.

Wie eingehende Vorversuche mit mehreren Säulenmaterialien zeigten, ist eine quantitative Auswertung der Versuche zur Al-Komplexierung nicht möglich, da freie Al-Ionen in unspezifischer Weise an der Kieselgeloberfläche zum Teil irreversibel gebunden werden.

Abb.4.23: RP-Chromatogramm einer Probelösung aus der C2-Fläche mit eingetragenen Al-Gehalten des im Fraktionssammler aufgefangenen Säuleneluates



In Abb.4.23 ist das HPLC-Signal einer Probelösung aus der Humusaufgabe der C2-Fläche in Verbindung mit dem Al-Gehalt des im Fraktionssammler aufgefangenen Säuleneluates dargestellt. Da die verwendete μ Bondapak C18-Säule freie Al-Ionen nahezu vollständig absorbiert, kann davon ausgegangen werden, daß es sich bei den im Eluat nachgewiesenen Al-Ionen vornehmlich um komplexgebundene Formen handelt.

Es zeigt sich, daß das Aluminium in engem Zusammenhang mit der starken UV-Absorption im Bereich der polaren HPLC-Fraktion steht. Im Bereich der weniger polaren Fraktion ist nur ein geringer Anstieg der Al-Konzentration zu verzeichnen.

Da, wie in Kapitel 3.6. näher erläutert, die polare Fraktion ein niedrigeres durchschnittliches Molekulargewicht aufweist, kann gefolgert werden, daß das Aluminium vorwiegend von niedermolekularen und stark polaren organischen Verbindungen komplexiert wird. Dieser Befund steht im Gegensatz zu Beobachtungen von KÖNIG (1985, 1986), der anhand von Dialyseexperimenten für die Aluminiumkomplexierung vor allem höhermole-

kulare Humusstoffe, die gut an mineralische Oberflächen absorbiert werden, verantwortlich macht. Andererseits ist bekannt, daß Aluminium von niedermolekularen Di- und Tricarbonsäuren wie Oxalsäure, Citronensäure, Apfel- und Weinsäure besonders stark komplexiert wird (HUB et al. 1986; POHLMAN u. MCCOLL 1986; MCCOLL u. POHLMAN 1986; NGKEEKWONG u. HUANG 1979). Diese Säuren erscheinen mit Retentionszeiten kleiner 5min durchweg im Bereich der polaren HPLC-Fraktion. Sie sind somit mit hoher Wahrscheinlichkeit für das in Abb.4.23 gefundene Verhalten verantwortlich, da sie im biologisch mäßig aktiven Fichtenhumus keinem allzu schnellen Abbau unterliegen.

4.3.2. Zusammenhang zwischen organischen Inhaltsstoffen und Komplexierung von Metallionen in den Wasserextrakten

Entsprechend der Aufgabenstellung der vorliegenden Arbeit wird an dieser Stelle nicht explizit auf die Metallionenkonzentrationen in den Wasserextrakten und deren Beeinflussung durch die experimentelle Behandlung eingegangen. Diesbezügliche Auswertungen können bei REITER et al. (1986) und SCHIERL et al. (1986) nachgelesen werden, so daß für die in diesem Kapitel zu treffenden Aussagen lediglich eine tabellarische Zusammenstellung der mittleren Gesamtgehalte in Abhängigkeit von Tiefe und Kalkung (Tab.4.8) erfolgen soll.

In den Abb.4.24 u. 4.25 sind die Gesamtgehalte der für die Pedogenese bedeutsamen Metallionen Al und Fe in Abhängigkeit der Integrale der polaren und weniger polaren HPLC-Fraktion für die einzelnen Tiefen dargestellt. Aus diesen Abbildungen läßt sich deutlich das horizontabhängig sehr unterschiedliche Zusammenspiel zwischen Al, Fe und der organischen Substanz ersehen. In Verbindung mit den in Tab.4.8 u. 4.9 aufgeführten Zahlenwerten können die im folgenden näher dargestellten Aussagen abgeleitet werden.

Tab.4.8: Durchschnittliche Gesamtgehalte 1986+87 [mval/l]

Tiefe Kalk		Al	Fe	Cu ·10 ⁻⁴	Zn ·10 ⁻³	Pb ·10 ⁻⁴	Ca	Mg	Mn
1	1	0.045	0.022	4.623	2.842	2.747	0.315	0.075	0.076
	2	0.037	0.022	6.444	3.276	1.289	2.165	1.744	0.079
2	1	0.041	0.019	3.536	2.149	1.822	0.190	0.055	0.039
	2	0.058	0.039	6.739	2.445	2.395	1.384	1.554	0.022
3	1	0.171	0.089	4.322	2.686	2.836	0.281	0.086	0.061
	2	0.244	0.138	5.600	2.001	4.585	0.676	0.895	0.020
4	1	0.329	0.191	3.138	2.750	1.718	0.312	0.129	0.082
	2	0.466	0.311	4.534	1.695	1.970	0.354	0.512	0.026
5	1	0.437	0.007	1.760	2.335	0.197	0.218	0.134	0.080
	2	0.314	0.015	1.624	1.472	0.214	0.181	0.392	0.039
6	1	0.436	0.001	1.803	1.961	0.140	0.204	0.181	0.092
	2	0.428	0.001	1.607	1.424	0.123	0.208	0.315	0.057

Tab.4.9: Durchschnittlich komplexierter Anteil 1986+87 [%]

Tiefe Kalk		pH	Al	Fe	Cu	Zn	Pb	Ca	Mg	Mn
1	1	4.27	71.1	74.5	77.6	33.4!	51.7	0	0.2	0
	2	7.01	57.3!	82.6	98.8	71.7!	46.6!	0	0	0
2	1	3.80	67.9	72.9	70.1	35.1!	34.6	0	0	0
	2	6.62	74.0!	76.9	98.1	68.9!	26.2!	0	0	0
3	1	3.48	61.6	62.2	65.7	34.3!	37.6	0	0	0
	2	4.56	71.1	69.0	79.9	35.1!	34.0!	0	0	0
4	1	3.46	52.9	53.8	75.0	28.2!	33.0	0	0.5	0
	2	3.86	68.0	66.1	75.2	32.9!	34.4!	0.1	0.3	0
5	1	3.88	9.9	22.9!	83.8!	31.2!	38.5	0	0	0
	2	3.95	15.5	38.6	83.2!	21.6!	38.2!	0	0.1	0
6	1	3.96	7.0	62.3!	68.5!	33.0!	41.3!	0	0.8	0
	2	3.98	7.0	59.4!	74.9!	28.9!	35.5!	0.1	0.2	0

! ein Teil der Werte liegt unterhalb der Nachweisgrenze und bleibt deshalb unberücksichtigt

Abb.4.24: Al-Gehalt der Wasserextrakte in Abhängigkeit der Integralsumme aus *polar* und *weniger polar* für die einzelnen Tiefenstufen

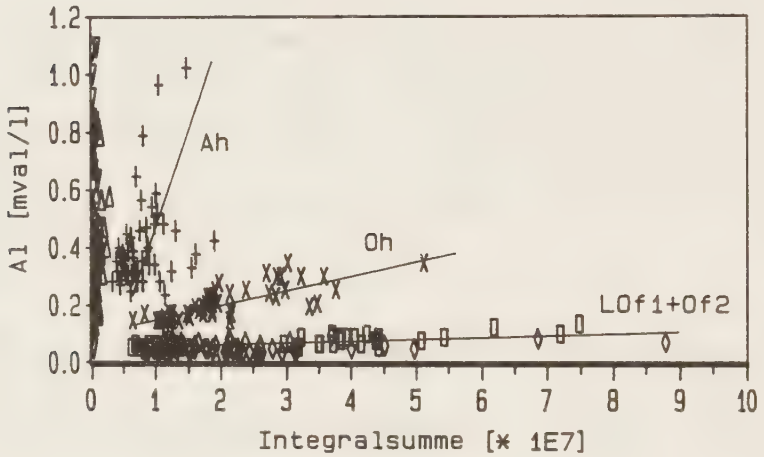
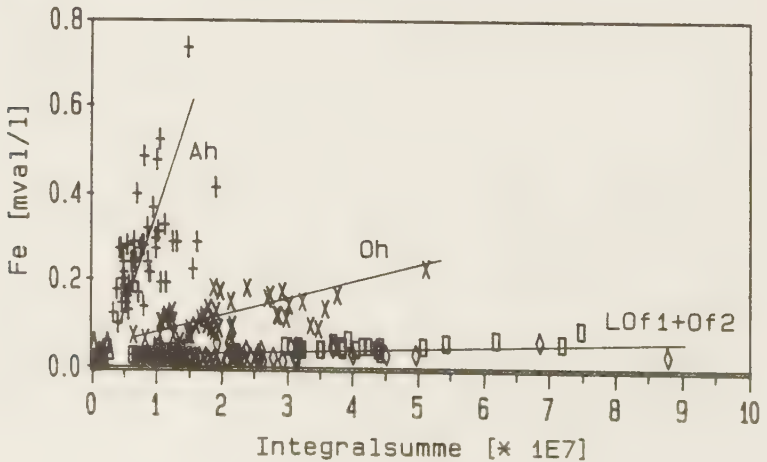


Abb.4.25: Fe-Gehalt der Wasserextrakte in Abhängigkeit der Integralsumme aus *polar* und *weniger polar* für die einzelnen Tiefenstufen



Bedingt durch den äußerst geringen Mineralgehalt ist in den Auflagehorizonten LOf1 und Of2 der Al- und Fe-Gehalt der Wasserextrakte vom eingeschränkten Angebot dieser Elemente bestimmt. Ein höherer Gehalt an organischen Inhaltsstoffen kann somit kaum zu einer weiteren Mobilisierung dieser Elemente führen. Erwartungsgemäß sind Al und Fe in den Wasserextrakten dieser Horizonte in hohem Maße organisch komplexiert (DRISCOLL et al. 1985; HAYES u. SWEET 1985; KÖNIG 1985). Auf den Kalkflächen ist das Eisen in den Tiefenstufen 1 u. 2 in stärkerem Umfang komplexiert als auf den ungekalkten Flächen. Beim Aluminium erhält man ein uneinheitliches Verhalten, da die Kalkung im LOf1-Horizont eine Verringerung, im Of2 dagegen eine Erhöhung des komplexierten Anteiles bewirkt. Auf diese pH-Abhängigkeit des komplexierten Anteils wird in Kapitel 4.3.3. näher eingegangen werden.

Im Oh-Horizont, in dem schon höhere Gesamtgehalte an Al und Fe in den Wasserextrakten erreicht werden, bewirkt ein Anstieg der gelösten organischen Substanz auch eine leichte Steigerung der Al- und Fe-Konzentrationen. Dieses Verhalten wird noch deutlicher im Ah-Horizont, wo hohe Metallionenkonzentrationen und beträchtliche Gehalte an organischer Substanz zusammentreffen. In allen bisher aufgeführten Horizonten liegen Al und Fe in überwiegend komplexierter Form vor.

Anders dagegen sieht das Verhalten in den tieferen Mineralbodenhorizonten 10-20 und 30-40cm aus. Von den hohen Aluminiumkonzentrationen ist nur ein geringer Teil (durchschnittlich 7 bis 16%) komplexiert. Beim Eisen ist festzustellen, daß im Ah ein Konzentrationsmaximum besteht, wogegen in tieferen Bodenschichten nahezu kein Fe mehr im Wasserextrakt enthalten ist. Der durchschnittlich komplexierte Anteil liegt hier bei 30 bis 63%. Die Lösungskonzentration der beiden Elemente wird in diesen Bodenschichten kaum mehr von organischen Komplexbildnern, sondern von pH-abhängigen Lösungs-, Sorptions- und Fällungsreaktionen bestimmt.

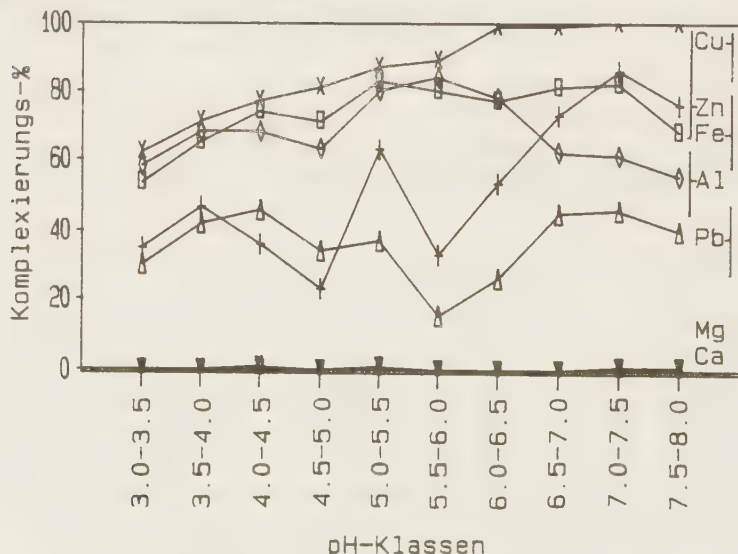
Bei den Elementen Cu, Zn, Pb, Ca, Mg und Mn sind keine derart klaren Unterschiede zwischen den einzelnen Bodenhorizonten festzustellen. Auch ein Kalkungseffekt kann nur bei Cu und Zn in den Auflagehorizonten LOf1, Of2 und Oh beobachtet werden, wo auf Kalkflächen ein höherer komplexierter Anteil gefunden werden kann. Ca und Mg weisen eine

äußerst geringe, Mn keine Komplexierung auf. Da Komplexierungsvorgänge im Boden stark pH-abhängig sind, soll eine Diskussion des beobachteten Verhaltens erst im nächsten Kapitel erfolgen.

4.3.3. Komplexierung in Abhängigkeit vom pH-Wert

In Abb.4.26 ist der mittlere komplexierte Anteil der einzelnen Elemente in Abhängigkeit vom pH-Wert dargestellt. Es wurden für diese Darstellung die Auflagehorizonte LO1, Of2 und Oh zusammengefaßt, um eine möglichst hohe Besetzung der einzelnen pH-Klassen zu erreichen.

Abb.4.26: Mittlere komplexierte Anteile in Abhängigkeit vom pH-Wert der Wasserextrakte; zusammenfassende Betrachtung der Auflagehorizonte mit Angabe der mittleren Streuung



Mit steigendem pH-Wert nimmt die Komplexierung von Kupfer kontinuierlich zu, so daß oberhalb pH 6.0 dieses Metall zu 100% in komplexierter Form vorliegt.

Die Elemente Eisen und Aluminium verhalten sich im pH-Bereich 3.0 bis 6.0 sehr ähnlich, wobei der komplexierte Anteil von 55% auf ca. 80% ansteigt. Bei höheren pH-Werten fällt der Komplexierungsgrad dieser beiden

Metallionen, wobei bei pH 7.5 für Al mit ca. 60% deutlich niedrigere Werte gefunden werden als dies für Fe mit ca 70% der Fall ist. Dieses pH-abhängige Verhalten erklärt die in Tab.4.9 gemachte Beobachtung, daß Aluminium im LOfl-Horizont auf den gekalkten Versuchsflächen einen geringeren Komplexierungsgrad aufweist als auf den ungekalkten Parzellen.

Zink und Blei sind im pH-Bereich 3.0 bis 6.5 in einem deutlich geringeren Umfang komplexiert als die Elemente Cu, Al und Fe. Für diese beiden Elemente ist ein Minimum der Komplexierung bei pH 5.5 festzustellen. Mit höheren pH-Werten steigt der Komplexierungsgrad an, wobei bei pH 7.0 für Zink mit ca. 80% gegenüber Blei mit ca. 40% eine deutlich stärkere Komplexierung beobachtet werden kann.

Calcium und Magnesium sind über den gesamten pH-Bereich nur sehr schwach komplexiert, wobei die Werte durchweg unter 2% liegen.

Aus den aufgetragenen prozentualen Komplexierungsanteilen kann aufgrund der im folgenden kurz erläuterten Überlegung zwar nicht auf die absolute Größe, aber auf eine Reihenfolge der Komplexstabilitätskonstanten für die einzelnen Elemente bei verschiedenen pH-Werten geschlossen werden.

Nach dem Massenwirkungsgesetz gilt für die Stabilitätskonstante einer Komplexverbindung vereinfacht der Zusammenhang

$$M + L \rightleftharpoons ML \quad K = \frac{[ML]}{[M] \cdot [L]} \quad (1)$$

Der prozentuale komplexierte Anteil ergibt sich aus (2).

$$(\%) = \frac{[ML]}{[M] + [ML]} \cdot 100 \quad (2)$$

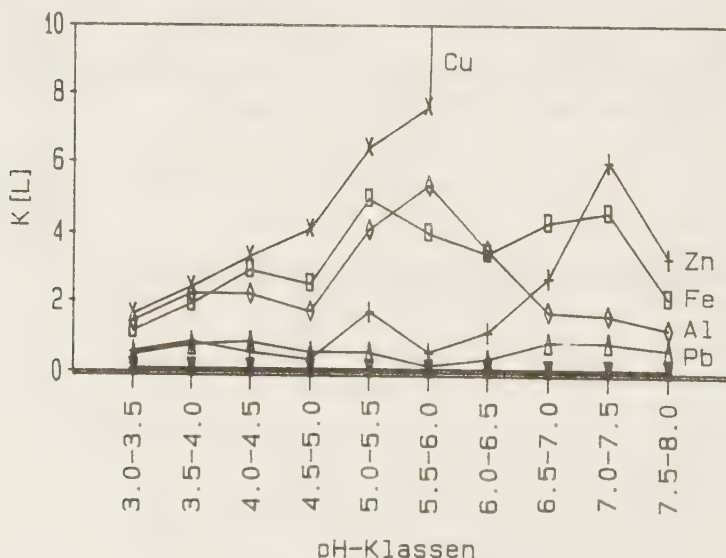
Löst man Gleichung (2) nach [M] auf und setzt in (1) ein, so erhält man nach entsprechender Umformung

$$K \cdot [L] = \frac{1}{\frac{100}{(\%)} - 1} \quad (3)$$

Dies bedeutet, daß bei konstantem $[L]$ ein größerer komplexierter Anteil auch eine größere Stabilitätskonstante bedingt. Im Falle der hier untersuchten Auflageextrakte kann angenommen werden, daß die organischen Komplexbildungsplätze $[L]$ im Verhältnis zu den Metallatomen im Überschuß vorhanden sind, d.h. daß sie für jede Metallspezies in annähernd gleichem Umfang zur Verfügung stehen (vgl. 4.3.4.). Die Verknüpfung von komplexiertem Anteil und der Komplexstabilität für die im folgenden dargestellten Vergleiche erscheint daher zulässig zu sein.

Da nach Gleichung (3) ein hyperbolischer Zusammenhang zwischen prozentualem komplexiertem Anteil und dem Produkt $K \cdot [L]$ besteht, ist in Abb.4.27 eine Auftragung von $K \cdot [L]$ in Abhängigkeit vom pH des Wasserextraktes gegeben. Unter der Annahme, das $[L]$ innerhalb einer pH-Klasse für alle Metallionen gleich sei, lassen sich für verschiedene pH-Werte Komplexstabilitätsreihen der untersuchten Metalle ableiten.

Abb.4.27: $K \cdot [L]$ in Abhängigkeit vom pH-Wert des Wasserextraktes; zusammenfassende Betrachtung der Auflagehorizonte



In Tab.4.8 sind die aus Abb.4.27 abgeleiteten Stabilitätsreihen entsprechenden Literaturdaten gegenübergestellt. Dabei zeigt sich, daß in keinem Fall eine gute Übereinstimmung erzielt wird. Dies mag daran liegen, daß in unseren Wasserextrakten niedermolekulare organische Liganden vorhanden sind, die bei der Herstellung von Fulvosäurepräparaten verloren gehen. Doch auch der Vergleich mit einem in ähnlicher Weise gewonnenen Humusextrakt erbringt kein befriedigendes Ergebnis.

Tab.4.8: Komplexstabilitätsreihen

	pH≈3.5	pH=5.0
Abb.4.27	$Cu \gg Al \gg Fe \gg Zn \approx Pb \gg Ca = Mg = Mn$	$Cu \gg Fe \gg Al \gg Zn \gg Pb \gg Ca = Mg = Mn$
Humusextr.	$Fe \gg Al \gg Pb \gg Cu \gg Zn \gg Mn = Ca = Mg$	1)
Fulvosäure	$Fe \gg Al \gg Cu \gg Pb = Ca \gg Zn \gg Mn \gg Mg$	2)
- " -	$Cu \gg Fe \gg Pb \gg Ca \gg Zn \gg Mn \gg Mg$	$Cu \gg Pb \gg Fe \gg Mn \gg Ca \gg Zn \gg Mg$ 3)
- " -	$Al \gg Cu \gg Pb \gg Ca \gg Zn \gg Mn \gg Mg$	$Cu \gg Pb \gg Fe \gg Mn \gg Ca \gg Zn \gg Mg$ 4)

- 1) KÖNIG 1985; 2) SCHNITZER u. HANSEN 1970; 3) SCHNITZER u. SKINNER 1967;
4) SCHNITZER 1969

Die Betrachtung der pH-Abhängigkeit der Stabilitätskonstanten einzelner Metalle ist aufgrund der ebenfalls pH-abhängigen Löslichkeit der WOS (vgl. 4.2.1.) und der dadurch nicht gegebenen Konstanz von [L] nur bedingt möglich. Ein Vergleich mit entsprechenden Beobachtungen in der Literatur (VERLOO u. COTTENIE 1972) ergibt, daß lediglich für Kupfer ein der Abb.4.26 entsprechendes pH-abhängiges Komplexierungsverhalten, nämlich eine 100%ige Komplexierung oberhalb pH6.5, gefunden wird. Für die Elemente Fe, Mn, Zn und Pb kann keine Übereinstimmung festgestellt werden.

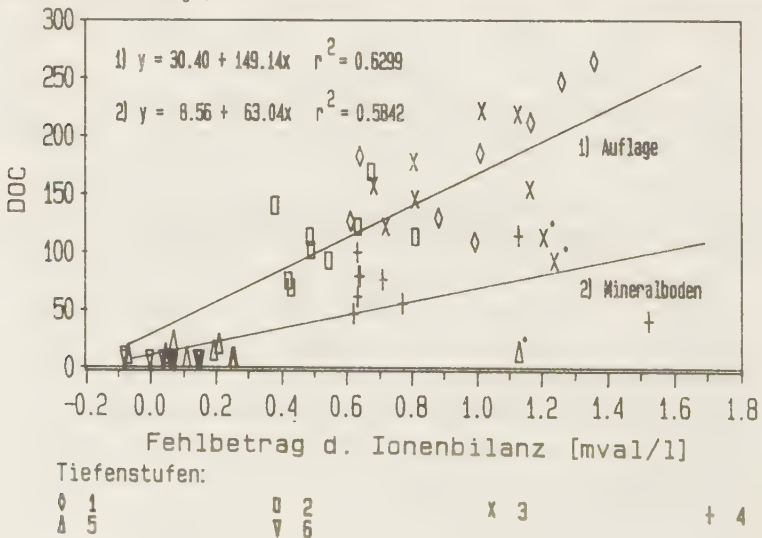
Es wird somit deutlich, daß Komplexierungsvorgänge eine wesentliche Bedeutung in den Wasserextrakten beigemessen werden kann. Die beobachtete pH-Abhängigkeit kann für die meisten Metalle nicht anhand von Literaturdaten bestätigt werden. Dies zeigt den Unterschied zwischen Laborexperimenten und langfristig angelegten ökologischen Untersuchungen deutlich auf. Das hier beobachtete abweichende Verhalten läßt sich vor allem darauf zurückführen, daß die durch die Kalkung bedingten pH-Veränderungen unter natürlichen Bedingungen auf die im Boden bestehenden Gleichgewichte einwirken können.

4.3.4. Die WOS als Fehlbetrag in der Ionenbilanz

Bei der Aufstellung von Ionenbilanzen ergibt sich vor allem in den oberen Bodenhorizonten ein Kationenüberschuß. Da die WOS durch ihre funktionellen Gruppen (vgl. Tab.1.1) zu den Anionen gezählt werden können, soll im folgenden überprüft werden, ob ein Zusammenhang zwischen dem Fehlbetrag in der Ionenbilanz und dem Gehalt an WOS besteht.

In Abb.4.28 ist die Beziehung zwischen DOC und der Differenz aus der Summe der freien Kationen und der Anionensumme dargestellt. Für diese Auswertung können nur die Daten der ungekalkten Parzellen verwendet werden, da in den Wasserextrakten Carbonat und Hydrogencarbonat wegen methodischer Schwierigkeiten nicht in der Routine bestimmt werden können. Außerdem sind die DOC-Gehalte nur für drei Probenahmeterminen (April, Mai u. September 87) am CHN-Analysator bestimmt worden. Aus dem sich ergebenden, nur mäßig korrelierten Zusammenhang läßt sich eine mittlere freie negative Ladung der WOS von 6.7mval/g in der Auflage und 15.6mval/g im Mineralboden errechnen.

Abb.4.28: Bestimmung der freien negativen Ladung der WOS durch Auftragung des DOC [mg/l] über dem Fehlbetrag der Ionenbilanz [mval/l] (die mit einem Punkt gekennzeichneten Wertepaare werden bei der Korrelation nicht berücksichtigt)



Geht man davon aus, daß bei der Bestimmung des komplexierten Anteiles der einzelnen Kationen vor allem organische Metallkomplexe erfaßt werden, so läßt sich auch eine durchschnittliche Gesamtladung der WOS bestimmen. Aus der Auftragung des DOC über der Summe aus Fehlbetrag der Ionenbilanz und der durch Komplexierung besetzten Ladungsträger ergibt sich nach linearer Regression eine mittlere Gesamtladung der WOS von 7.2mval/g ($y = 28.14 + 138.66x$; $r^2=0.6553$) in der Auflage und 17.1mval/g ($y = 6.15 + 58.42x$; $r^2=0.6918$) im Mineralboden. Es sind somit im Durchschnitt nur 6.9% (8.8% im Mineralboden) der negativen Ladungsträger durch die Komplexierung von Metallionen besetzt.

Ein Vergleich der erhaltenen Daten mit entsprechenden Literaturwerten für die Gesamtacidität von Fulvosäuren (6.0-14.2mval/g) und Huminsäuren (5.7-8.9mval/g) (STEVENSON 1982; HUANG et al. 1977; THURMAN 1985) ergibt, daß die Ladung der WOS in den Auflagehorizonten in der Größenordnung der für Huminsäuren erhaltenen Werte liegt. Im Mineralboden, wo die polare Fraktion dominiert, wird eine höhere Ladung der WOS beobachtet, die den für Fulvosäuren angegebenen Wertebereich sogar übersteigt.

Ein Grund für die nur mäßige Korrelation zwischen DOC-Gehalt und Anionenfehlbetrag in den Wasserextrakten mag darin liegen, daß für die Berechnung nur die freien (bestimmt aus der Ionenbilanz) und die durch starke Komplexierung besetzten (bestimmt durch Ionenaustausch) negativen Ladungsträger berücksichtigt werden können. Ladungen, welche durch Ionenpaarbildung oder durch nur schwache Komplexbildung besetzt sind, können mit den eingesetzten Methoden nicht erfaßt werden. Die angegebenen Werte für eine mittlere freie bzw. eine Gesamtladung der WOS sind nur als Richtwerte zu sehen, die die tatsächlich vorhandene Ladung eher unterschätzen.

4.4. Ergebnisse der Stickstoff-, Zucker- und Phenolbestimmungen

4.4.1. Stickstoff

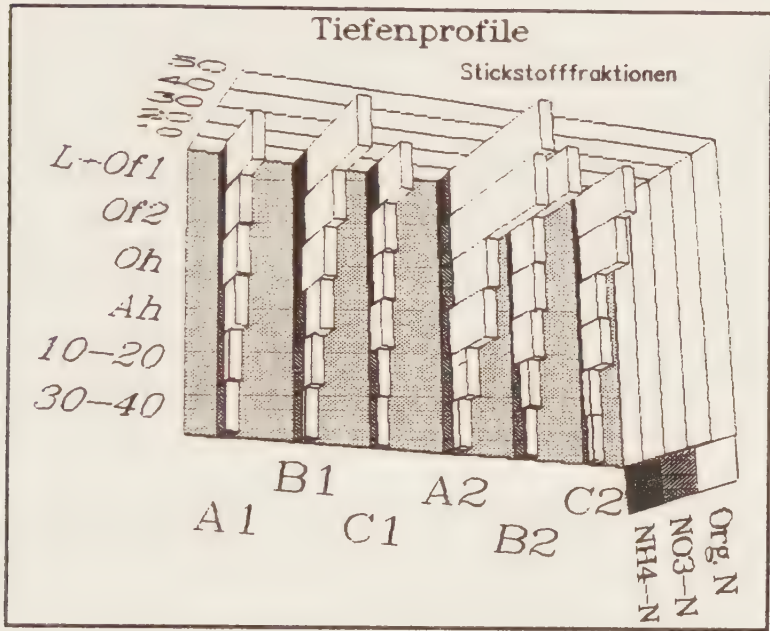
In der Festschubstanz von Auflagehorizonten der meisten Böden liegen über 90% des Stickstoffes in organisch gebundener Form vor (SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL, 1982, STEVENSON 1982). Es war daher von Interesse, den Gehalt der Wasserextrakte an organischem N bei einigen Probenahmetermeninen zu erfassen ($\text{NO}_3\text{-N}$ und $\text{NH}_4\text{-N}$ werden routinemäßig bei allen Probenahmen bestimmt), da die organischen Stickstoffformen die Grundlage für die Bildung anorganischer N-Formen durch die Mineralisation darstellen.

Für die Bestimmung des gelösten Gesamtstickstoffs in den Wasserextrakten an zwei Probenahmetermeninen im Herbst 86 wurde eine von uns modifizierte kolorimetrische Mikromethode (STRAUCH 1965) eingesetzt. Ab Frühjahr 1987 stand für diese Untersuchungen ein CHN-Analysator zur Verfügung. Der Gehalt an organischem N wurde aus der Differenz von Gesamt-N und den gemessenen Nitrat- und Ammoniumkonzentrationen berechnet.

In der Abb.4.29 ist die Zusammensetzung des Gesamtstickstoffs aus den Komponenten $\text{NH}_4\text{-N}$, $\text{NO}_3\text{-N}$ und org.N auf den einzelnen Versuchspartellen exemplarisch für den Probenahmetermin September 86 aufgezeigt. Man erkennt deutlich die Bedeutung des organisch gebundenen Stickstoffs, der in den Wasserextrakten der Auflage- und Ah-Horizonte mit einem Anteil von durchschnittlich 79% (55 bis 94%) die dominierende N-Form darstellt.

An Behandlungseffekten fällt zunächst die überproportional starke Erhöhung der org. Stickstoffwerte in den Auflagehorizonten LO1 und OF2 der A2-Fläche auf. Die beiden anderen Kalkungsvarianten B2 und C2 zeigen keine derartige Reaktion, sie weisen allerdings im Vergleich mit den übrigen Versuchspartellen die geringsten Werte an anorg.N auf. So überschreitet hier der Gehalt an $\text{NO}_3\text{-N} + \text{NH}_4\text{-N}$ in der gesamten Profiltiefe nur selten einen Wert von 5mg/l, wogegen auf den übrigen Versuchspartellen Werte zwischen 5 und 10mg/l die Regel sind.

Abb.4.29: Verteilung der Stickstoffformen auf den Versuchsparzellen; Probenahmeterrnin September 86, Werte in mg/l



Während der Gehalt an org.N mit zunehmender Profiltiefe kontinuierlich abnimmt, bleibt die Summe der anorg. N-Formen in allen Tiefen auf einer Versuchsparzelle annähernd konstant. Dabei dominiert im obersten Auflagehorizont (LOf1) der Ammoniumstickstoff, der in größerer Tiefe immer mehr vom Nitratstickstoff verdrängt wird, so daß unterhalb des Ah-Horizontes praktisch kein Ammonium mehr nachgewiesen werden kann.

Die hier für die Probenahme Sept.86 gemachten Aussagen können qualitativ auf die weiteren Untersuchungstermine übertragen werden.

Für einen Vergleich der Versuchsparzellen sind in Tab.4.9 die Ergebnisse der Stickstoffuntersuchungen der Wasserextrakte zusammengefaßt. Da die Auswirkungen der experimentellen Behandlung vor allem in den Auflagehorizonten zu beobachten sind, werden die Mittelwerte aus den Tiefenstufen 1 bis 3 angegeben.

Tab.4.9: Stickstofffraktionen der Wasserextrakte; Mittelwerte der organischen Auflage [mg/l] auf den einzelnen Versuchsparzellen

	NH ₄ -N	NO ₃ -N	org. N	C/N		NH ₄ -N	NO ₃ -N	org. N	C/N
Sept. 86 A1	2.9	3.3	16.3	4.8	A2	2.3	5.6	63.3	6.0
B1	6.5	1.9	24.7	4.1	B2	2.2	0.3	18.7	14.4
C1	3.6	1.1	10.3	9.5	C2	1.9	0.1	17.7	17.1
Okt. 86 A1	1.4	6.3	14.7	3.6	A2	9.2	5.5	68.7	8.1
B1	3.5	1.0	17.5	2.8	B2	1.7	0.8	30.8	5.0
C1	1.6	1.8	23.2	3.9	C2	2.0	0.0	31.0	8.9
Apr. 87 A1	3.7	1.2	8.5	12.6	A2	2.0	0.9	16.0	16.1
B1	4.3	0.3	7.3	16.6	B2	1.4	0.6	9.2	20.3
C1	5.0	1.3	7.6	12.1	C2	1.4	0.5	12.8	20.9
Sept. 87 A1	0.7	1.6	9.8	12.2	A2	0.3	0.1	15.3	17.5
B1	0.6	0.5	6.3	13.2	B2	0.8	0.0	12.4	17.4
C1	0.5	0.8	6.1	19.6	C2	0.8	0.0	15.1	20.4

Wie bei den HPLC-Untersuchungen bewirkt die Kalkung auch bei der Analyse der Stickstofffraktionen einen deutlichen Behandlungseffekt. Während bei den anorganischen N-Formen nur geringe, nicht eindeutig interpretierbare Veränderungen zu beobachten sind, ist auf den Kalkflächen in der Regel eine Erhöhung der Werte für den organisch gebundenen Stickstoff festzustellen. Es erweitert sich aber in jedem Fall das Verhältnis von organisch gebundenem Stickstoff zu anorganisch gebundenem Stickstoff.

Da die Kalkung sowohl den Kohlenstoff-, als auch den Stickstoffgehalt der Wasserextrakte beeinflusst, ist auch eine Betrachtung des C/N-Verhältnisses von Interesse. Ferner ist das C/N-Verhältnis ein guter Indikator für die biologische Aktivität eines Bodens bzw. die Zersetzbarkeit organischen Materials. Allerdings beziehen sich alle diesbezüglichen Angaben auf die Untersuchung fester Bodenproben (SEMELF 1973; SCHEPPER/SCHACHTSCHABEL 1982; ZIESSCHWITZ 1985). Sie sind deshalb nur bedingt auf die im Höglwald gewonnenen Wasserextrakte übertragbar.

Auf den Kalkflächen ist das C/N-Verhältnis stets größer als auf den ungekalkten Versuchsparzellen. Da mit größer werdendem C/N-Verhältnis eine Verringerung der biologischen Abbaubarkeit der organischen Substanz verbunden ist, sind die in den Wasserextrakten der Kalkflächen gelösten

organischen Stoffe in ihrem ökologischen Verhalten deutlich verschieden von denen der ungekalkten Versuchspartzellen.

Berechnungseffekte lassen sich aus Tab.4.9 auf den ungekalkten Flächen für die organische Stickstofffraktion nicht ableiten. Auf den gekalkten Flächen bringt die zusätzliche Berechnung eine Verringerung der Werte des organisch gebundenen Stickstoffs und eine Erweiterung des C/N-Verhältnisses im Vergleich zur Fläche A2. Dies mag daran liegen, daß die berechnungsbedingte stärkere Perkolation eine Verlagerung des relativ mobilen Nitratstickstoffs in tiefere Bodenschichten mit sich bringt, was die geringeren $\text{NO}_3\text{-N}$ -Werte in Tab.4.9 für alle Berechnungsvarianten erklären kann. Es steht somit weniger leicht mobilisierbarer anorganischer Stickstoff zum Einbau in die organische Bodensubstanz zur Verfügung. Dieses Defizit macht sich vor allem auf den Flächen B2 und C2 mit ihren kalkungsbedingten hohen DOC-Werten bemerkbar und führt zu der beobachteten Vergrößerung des C/N-Verhältnisses.

Die schon in Kapitel 4.1.1. beschriebene Sonderstellung des Jahres 1987 läßt sich auch bei der Untersuchung des Stickstoffs feststellen. Der höhere Bestandesniederschlag in 1987 bewirkt bei allen drei N-Fractionen eine Reduzierung der erhaltenen Werte, wobei besonders der Nitrat- und der organisch gebundene Stickstoff betroffen sind. Durch diesen Rückgang der Stickstoffgehalte vergrößert sich das C/N-Verhältnis in den Wasserextrakten. Beregnung und Bestandesniederschlag beeinflussen somit in vergleichbarer Weise den N-Haushalt der Wasserextrakte.

Es zeigt sich, daß die Auswirkungen der experimentellen Behandlung auf den in den Wasserextrakten gelösten Stickstoff ebenso komplex sind wie in den bereits diskutierten HPLC-Untersuchungen. Die begrenzte Anzahl der Daten zum Verhalten der Stickstofffraktionen auf den einzelnen Versuchspartzellen läßt zum jetzigen Zeitpunkt allerdings keine weitergehenden Aussagen zu.

4.4.2. Zucker

Kohlenhydrate stellen mit einem Anteil von 5 bis 16% (FLAG 1971; GREENLAND u. OADES 1975) einen wesentlichen Bestandteil der organischen Bodensubstanz dar. Sie sind aufgrund ihrer relativ guten Abbaubarkeit ein bestimmender Faktor der mikrobiellen Population (CHESHIRE et al. 1974). Aus diesem Grund sollte auch die Kohlenhydratkomponente der gewonnenen Wasserextrakte bestimmt werden.

Da Hexosen den Hauptteil der im Boden vorkommenden Zucker ausmachen (GREENLAND u. OADES 1975), konnten die Untersuchungen für den beabsichtigten Überblick der Kohlenhydratverteilung auf den Versuchsparzellen auf diese Substanzklasse beschränkt werden. Eine geeignete Methode schien uns der kolorimetrische Zuckernachweis mit Anthron zu sein, da dieses Reagenz vorwiegend mit Hexosen reagiert, keinen verfälschenden Einflüssen durch Nichtkohlenhydraten unterliegt, auch stabilere Glycoside erfaßt und bereits erfolgreich zur Bestimmung von Kohlehydraten in Böden und Pflanzenextrakten eingesetzt wurde (BRINK et al. 1960; YEMM u. WILLIS 1954; IVARSON u. SOWDEN 1962).

Um neben dem Gesamtkohlenhydratgehalt der Wasserextrakte auch den Anteil freier, nicht an die Huminstoffmatrix gebundener Zucker zu erfassen, wurde zusätzlich eine Zuckerbestimmung nach erfolgter Huminstoffausfällung mit Bleiacetat durchgeführt. Die Fällung von Polyphenolen mit Bleiacetat ist ein altbekannter Reinigungsschritt bei der Gewinnung pflanzlicher Gerbstoffe (FREUDENBERG 1933). Wie Tab.4.10 zeigt, hat diese Huminstofffällung keinen Einfluß auf den Verlauf der Anthronreaktion. Es zeigt sich allerdings, daß bei Saccharose ein stark überhöhter und bei Stärke ein zu niedriger Glucoseäquivalentwert erhalten wird. Dieser Sachverhalt findet seine Begründung in der unvollständig verlaufenden Hydrolyse und der bei verschiedenen Zuckern in unterschiedlicher Intensität verlaufenden Farbreaktion (BRINK et al. 1960; YEMM u. WILLIS 1954). Trotz dieser Nachteile wurde die Anthronreaktion zur Erfassung eines Summenparameters für den Kohlenhydratgehalt der Wasserextrakte eingesetzt, wobei die erhaltenen Glucoseäquivalentwerte eher für den Vergleich der Extrakte untereinander als für eine Angabe absoluter Zuckergehalte geeignet sind

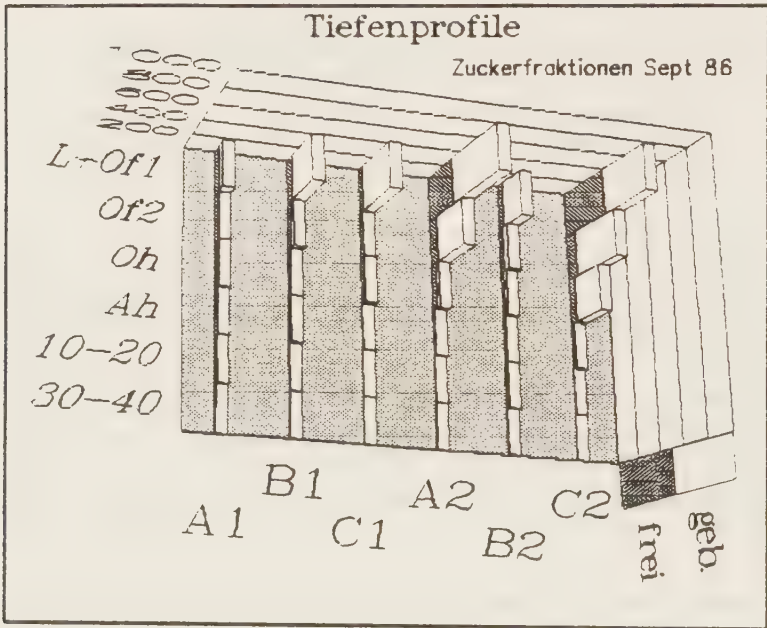
Tab.4.10: Einfluß der Bleiacetatfällung auf die Anthronreaktion mit Mono-Di- und Polysacchariden (Werte in mg/l Glucoseäquivalent)

	Glucose			Saccharose	Stärke
theoret.	10	30	100	50	50
ohne Fällung	8	29	100	127	10
mit Fällung	9	30	101	127	9

In Abb.4.30 sind die Ergebnisse der Zuckeranalyse der Probenahme vom September 1986 dargestellt. Es zeigt sich, daß jede Behandlungsvariante die Zuckerverteilung im Vergleich zur Kontrollfläche (A1) beeinflußt, wobei grundsätzlich eine Erhöhung des Gesamtzuckergehaltes im Wasserextrakt des LOfl-Horizontes zu beobachten ist. Kalkung bewirkt eine Steigerung des Kohlenhydratgehaltes in den Auflagehorizonten, wobei Gesamtgehalte bis zu 800mg/l Glucoseäquivalente erreicht werden. Besonders auffällig ist, daß die Kombination Kalk+saure Regen (B2) deutlich geringere Zuckerwerte aufweist als die beiden anderen Kalkungsvarianten (A2, C2).

Ein Vergleich der Zuckergehalte mit den Daten der mikrobiellen Aktivität ist nur sehr bedingt möglich, da diese im September 1985 erhoben wurden (KREUTZER u. ZELLES 1986). Dabei zeigt sich, daß sowohl der Zuckergehalt als auch die mikrobielle Aktivität in den Auflagehorizonten mit zunehmender Tiefe deutlich abnehmen. Ferner wirkt die Kalkung stimulierend auf die mikrobielle Tätigkeit, was im erhöhten Kohlenhydratgehalt der Bodenlösung begründet sein kann. Weitergehende Aussagen über den sicherlich interessanten Zusammenhang zwischen mikrobieller Aktivität und Kohlenhydratgehalt der Bodenlösung sind aufgrund der wenigen zur Verfügung stehenden Daten leider nicht möglich.

Abb.4.30: Verteilung freier und gebundener Zucker auf den Versuchspartikeln; Werte in mg/l Glucoseäquivalente



Die hier vorgestellten Aussagen über die Kohlenhydratgehalte auf den baumnahen Probenahmepunkten konnten im wesentlichen auf den Zwischenflächenpunkten im Oktober 1986 bestätigt werden. Dabei ergab sich, daß auf der Zwischenfläche, vermutlich bedingt durch die günstigeren Licht und Wärmeverhältnisse, höhere Gesamtzuckergehalte festzustellen sind.

Die Anthronbestimmung im Frühjahr 1987 (ZF April, BN Mai) erbrachte deutlich erniedrigte Kohlenhydratgehalte, die selten einen Wert von 50mg/l Glucoseäquivalente überschreiten (Tab.4.11). Ein Kalkungseffekt, d.h. eine Erhöhung der Zuckerwerte in den Wasserextrakten der Kalkvarianten, ist außer im Of2-Horizont nicht mehr festzustellen. Daraus folgt, daß der Zuckergehalt in der Bodenlösung offensichtlich starken jahreszeitlichen Schwankungen unterworfen ist. Aus diesem Grund läßt sich auch keine Beziehung zwischen DOC und Zuckergehalt ableiten.

Tab.4.11: Kohlenhydratgehalte in den Wasserextrakten in mg C pro Liter und Berechnung des prozentualen Anteiles von Kohlenhydrat-C am Gesamtkohlenstoff der Wasserextrakte

		BN Sep.86	ZF Okt.86	ZF Apr.87	BN Mai 87
Lof1	A1	178 40	310 78	37 7	224 14
	B1	395 49	398 106	36 11	43 7
	C1	425 57	433 105	41 9	52 8
	A2	810 36	>500 -	51 7	62 5
	B2	257 18	375 53	37 9	30 4
	C2	785 65	440 48	82 17	37 3
Of2	A1	88 30	110 50	28 9	29 7
	B1	98 23	70 32	19 7	25 7
	C1	43 17	338 113	27 10	31 13
	A2	395 33	>500 -	50 5	52 4
	B2	95 9	275 39	41 6	31 4
	C2	483 36	388 35	42 6	41 5
Oh	A1	83 20	143 48	34 9	36 7
	B1	43 12	93 39	33 12	36 7
	C1	55 11	185 44	38 9	37 20
	A2	98 13	480 53	37 6	45 6
	B2	63 10	140 33	35 8	33 7
	C2	310 38	420 38	38 10	40 4

Der Zuckergehalt in Böden liegt bei 5 bis 20% (GREENLAND u. OADES 1975) und in Oberflächengewässern bei 8 bis 19% (THURMAN 1985; OGNER 1985) des gesamten organischen Kohlenstoffes. Berechnet man den prozentualen Anteil des Kohlenhydratkohlenstoffes am DOC der untersuchten Wasserextrakte, so zeigt sich, daß im Herbst, ohne Berücksichtigung einiger stark überhöhter Werte, mit 10 bis 65% Gesamtzucker bzw. 4 bis 33% freiem Zucker die oben angegebenen Literaturwerte meist überschritten werden. Im Frühjahr liegen die Kohlenhydratwerte mit 4 bis 20% beim Gesamtzucker und 2 bis 16% beim freien Zucker in der zu erwartenden Größenordnung. Eine Unterscheidung zwischen gekalkten und nicht gekalkten Flächen bei der Berechnung der prozentualen Zuckeranteile erbringt aufgrund der stark streuenden Werte keine signifikanten Unterschiede.

Der Anteil der freien, d.h. nicht an Huminstoffe gebundenen Zucker am Gesamtzucker ist erwartungsgemäß (SWEET u. PERDUE 1982) starken Schwankungen unterworfen und liegt mit durchschnittlich 47% im Herbst deutlich niedriger als im Frühjahr mit 69% durchschnittlichem Anteil.

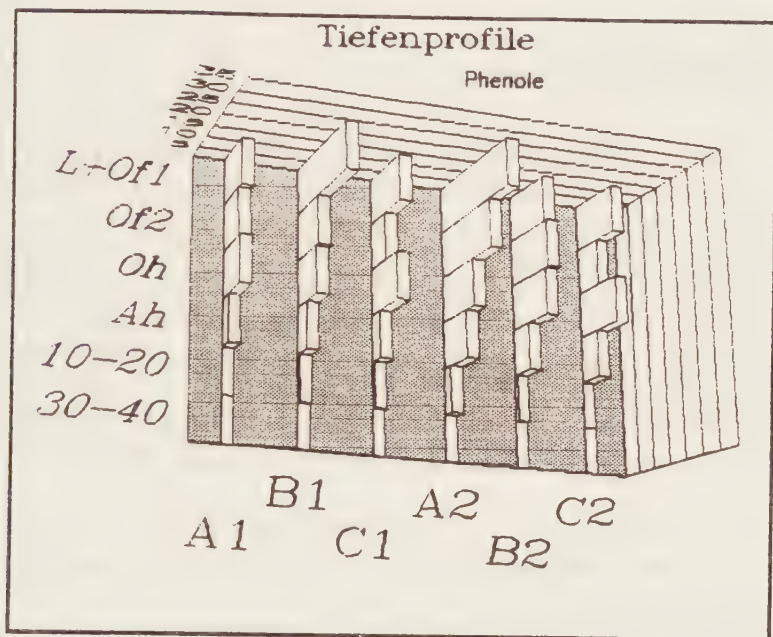
Die Untersuchung des Kohlenhydrathaushaltes mit Hilfe der Anthronreaktionen bringt trotz ihres nicht ganz eindeutigen Verlaufes wertvolle Informationen über die Zusammensetzung der erhaltenen Wasserextrakte. Sie soll deshalb im Höglwaldprojekt weiterhin an einigen ausgewählten Probenahmeterminen durchgeführt werden.

4.4.3. Phenole

Nach gängiger Lehrbuchmeinung bestehen Huminstoffe zu einem wesentlichen Teil aus phenolischen Bausteinen (FLAIG et al. 1975, STEVENSON 1982). Für die Bestimmung des Gesamtgehaltes an Polyhydroxyphenolen in den Wasserextrakten kam die Methode nach HORWITZ (1960) zum Einsatz, die auf Oxidation der freien Phenolgruppen durch Molybdän- u. Wolfram-Phosphorsäure (Folin-Ciocalteaus-Reagenz) und photometrischer Messung der durch Reduktion entstandenen blauen Farbe basiert. Die Ergebnisse werden bezogen auf die verwendete Standardsubstanz Salicylsäure ausgedrückt. Sie sind aus diesem Grund nur Orientierungswerte zur Durchführung relativer Vergleiche, da in den Wasserextrakten Phenole mit unterschiedlicher Anzahl reaktionsfähiger Hydroxylgruppen vorkommen.

In Abb.4.31 sind die Ergebnisse der Phenolbestimmung vom September 86 dargestellt, wobei sich aus dieser Darstellung keine eindeutigen Behandlungseffekte ableiten lassen.

Abb.4.31: Phenole auf den Versuchsparzellen; Probenahme Sept.86, Werte in mg/l Salicylsäureäquivalente



Berechnet man auf der Basis der verwendeten Eichsubstanz Salicylsäure (eine phenol. OH-Gruppe am Benzolring) den prozentualen Anteil des phenolischen Kohlenstoffs am DOC der Wasserextrakte in den Auflagehorizonten, so erhält man einen Durchschnittswert von 3,9%. Eine getrennte Auswertung der gekalkten und nicht gekalkten Versuchsvarianten erbrachte einen phenol. C-Gehalt von 5,0% (3,5-6,6%) auf den ungekalkten und 2,9% (1,0-5,1%) auf den gekalkten Parzellen.

Dieser Unterschied ist bei Anwendung des Mittelwert-t-Test (BAUER 1986) auf dem 99,9%-Niveau signifikant. Die hier aufgeführten Prozentwerte wurden aus den Ergebnissen der Probenahmen BN Sept. 86 und ZF Okt. 86 gewonnen und liegen in dem in der Literatur angegebenen Bereich von 0,3 bis 7% (FLAIG et al. 1975).

5. Zusammenfassung der Ergebnisse

5.1. Methodische Ergebnisse

Im Freilandexperiment Höglwald werden die Auswirkungen von saurer Beregnung und kompensatorischer Kalkung auf einen Fichtenbestand erforscht. Da es sich um ein ökologisch ausgerichtetes Forschungsprojekt handelt, sollen möglichst "naturnahe" Verhältnisse erfaßt werden. Aus diesem Grund werden die aus den einzelnen Bodenhorizonten gewonnenen Wasserextrakte ohne weitere Probenvorbereitung unter Einsatz der RP-HPLC (Reversed-phase Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie) auf wasserlösliche organische Stoffe (WOS) untersucht. Die auf den Versuchspartellen erhaltenen RP-HPLC-Spektren werden als momentaner "Fingerabdruck" der organischen Inhaltsstoffe der Wasserextrakte interpretiert.

Bei den Versuchen zur Auswahl einer geeigneten Trennmethode zeigt sich, daß alle getesteten RP-Materialien sehr ähnliche Auftrennungen der WOS liefern. Für die Routineanalytik werden die Säulen μ Bondapak C18 und Novapak C18 der Fa. Waters unter Verwendung eines Lösungsmittelgradienten von 95% H_3PO_4 (pH 3.5)/5% CH_3CN nach 100% CH_3CN ausgewählt. Die Detektionswellenlänge scheint im Bereich 200-400nm frei wählbar zu sein, da mit zunehmender Wellenlänge eine stetig abnehmende UV-Absorption der WOS zu beobachten ist. Aus dieser Tatsache läßt sich ableiten, daß nur ein geringer aromatischer Charakter der WOS besteht, da aromatische bzw. phenolische Strukturen Absorptionsmaxima im Bereich um 280nm besitzen. Wegen des möglichen Auftretens phenolischer Absorptionsmaxima wird für die Routineanalytik die Detektionswellenlänge 280nm gewählt.

Die Identifizierung einzelner Inhaltsstoffe der Wasserextrakte durch die Zuordnung von Retentionszeiten und die Aufstockung und quantitative Wiederfindung entsprechender Standardsubstanzen ist nicht möglich. Die zugegebenen Standards gehen chemische Reaktionen ein bzw. bilden schwerlösliche Salze und Ionenpaare, so daß das HPLC-Signal eines Standards in manchen Fällen vollständig verloren geht.

Für die Auswertung der Chromatogramme wird daher eine Bereichsintegration angewendet. Da alle erhaltenen WOS-HPLC-Spektren eine deutliche Zweiteilung in einen Bereich scharfer Absorptionssignale zu Beginn und einen nicht aufgelösten Teil im weiteren Verlauf des Chromatogrammes aufweisen, werden zwei Integrationsbereiche ausgeschieden. Bedingt durch die Trenneigenschaften der RP-HPLC wird der Integrationsbereich von $RT=50$ bis 800sec mit *polar*, der Bereich von 800 bis 2000sec mit *weniger polar* bezeichnet.

Die Anwendung der Bereichsintegration wird bestätigt durch die gute Korrelation ($r^2=0.9644$) zwischen der Summe aus *polar* und *weniger polar* und dem DOC des Wasserextraktes. Ferner zeigen Dialyse- und Ultrafiltrationsexperimente, daß die polare Fraktion ein geringeres mittleres Molekulargewicht besitzt. Die in dieser Fraktion zusammengefaßten Inhaltsstoffe sind hydrophiler und damit auch mobiler als die der Fraktion *weniger polar*.

5.2. Das Verhalten der WOS auf den einzelnen Versuchsparzellen

Die Menge an WOS in den einzelnen Wasserextrakten wird durch die probenahmebedingten Einflußgrößen Tiefe und Baumabstand, sowie durch die Versuchsparameter Kalkung und Beregnung bestimmt.

Für die statistische Auswertung des erhaltenen Datenmaterials wird eine Kombination aus Varianzanalyse und simultanen Mittelwertvergleichen eingesetzt.

Auf allen Versuchsparzellen nehmen die Integralwerte der WOS mit zunehmender Profiltiefe ab. Dabei nimmt auf den ungekalkten Flächen der Of2-Horizont eine Sonderstellung ein, da er, vor allem bei der polaren Fraktion, eine Depression der Werte aufweist. In den Auflagehorizonten überwiegt die weniger polare Fraktion, wogegen in den Mineralbodenhorizonten zwischen 10 und 40 cm Tiefe die Fraktion *polar* dominiert, da diese weniger stark von mineralischen Oberflächen adsorbiert wird. Das Verhältnis von *weniger polar* zu *polar* in den einzelnen Horizonten verschiebt sich im Untersuchungszeitraum auf allen Versuchsparzellen hin zu einem höheren polaren Anteil. Dieser Trend ist höchstwahrscheinlich

durch die Jahreswitterung bedingt, die 1986 und vor allem 1987 durch geringere Temperaturen und einen erhöhten Bestandesniederschlag geprägt war.

Bedingt durch das veränderte Mikroklima, die stärkere Durchwurzelung und der größeren Mächtigkeit der Humusaufgabe werden auf den baumnahen Probenahmepunkten höhere WOS-Gehalte gefunden als auf der Zwischenfläche. Auf der Kontrollfläche deutet sich ein Jahresgang der Löslichkeit organischer Substanzen an, mit steigenden Werten im Frühjahr und einem Rückgang im Herbst.

Von den Varianten der experimentellen Behandlung übt die Kalkung den stärksten Einfluß auf die WOS-Werte aus. Sie führt in jedem Fall zu einer Mobilisierung wasserlöslicher organischer Stoffe. Dies ist bei der Fraktion *polar* bis in 10-20cm Tiefe, bei *weniger polar* bis in den Ah-Horizont statistisch abgesichert.

Der Einfluß der Beregnung wird vor allem auf den gekalkten Flächen B2 und C2 deutlich, wo durch den zusätzlichen Wassereintrag eine Reduzierung der WOS-Gehalte im Vergleich zur gekalkten Kontrollparzelle A2 festzustellen ist. Dabei liegen die Werte auf der sauer beregneten Kalkfläche B2 stets unter denen der normal beregneten Kalkfläche C2. Es ist somit eine Unterscheidung von "Wassereffekt" und "Säureeffekt" möglich; Bewässerung und Säureeintrag bewirken unabhängig voneinander eine Reduktion der WOS. Auf den nicht gekalkten Versuchspartzen B1 und C1 ergeben sich vergleichbare Beregnungseinflüsse, jedoch deutlich schwächer ausgeprägt.

Eine getrennte Betrachtung der Untersuchungsjahre 1986 und 1987 erbringt, daß 1986 der mobilisierende Einfluß der Kalkung überwiegt. Im Jahr 1987 verstärkt der deutlich erhöhte Bestandesniederschlag den Einfluß der Beregnungsvarianten, so daß der Beregnungseffekt gegenüber dem Kalkeffekt stärker in Erscheinung tritt.

Die Erfassung der Gesamtstickstoff-, Kohlenhydrat- und Phenolgehalte auf den einzelnen Versuchsparzellen dient ebenfalls der Charakterisierung der WOS.

So liegen in den Auflage- und Ah-Horizonten 55 bis 94% des Gesamtstickstoffs in organisch gebundener Form vor. Der Gehalt an org.N nimmt erwartungsgemäß mit der Tiefe ab. Die Summe aus $\text{NH}_4\text{-N}$ und $\text{NO}_3\text{-N}$ bleibt innerhalb eines Profils relativ konstant, wobei in den oberen Auflagehorizonten das Ammonium dominiert. Im Mineralboden ab 10cm Tiefe stellt Nitrat die einzige anorg. Stickstoffform dar.

Der Einfluß der experimentellen Behandlung macht sich besonders beim C/N-Verhältnis der Wasserextrakte bemerkbar, das durch die Kalkung erweitert wird. Die Beregnung wirkt sich nur auf den zusätzlich gekalkten Parzellen B2 und C2 aus, wo ein größeres C/N-Verhältnis gefunden wird als auf der Fläche A2.

Bei der Untersuchung der Kohlenhydrate wurde zwischen freiem, nicht huminstoffgebundenem und Gesamtkohlenhydratgehalt unterschieden. Die ermittelten Glucoseäquivalente sind als Orientierungswerte zu betrachten. Sie zeigen, daß der Zuckergehalt der Wasserextrakte starken jahreszeitlichen Schwankungen unterliegt. Im Herbst 1986 liegen die Anteile des Kohlenhydrat-C am DOC mit 10 bis 65% beim Gesamtzucker und 4 bis 33% beim freiem Zucker deutlich höher als im Frühjahr 1987, mit Werten von 4 bis 20% bzw. 2 bis 16%. Die Kalkung scheint die Kohlenhydratgehalte der Bodenlösung zu erhöhen. Auffällig ist, daß bei der Versuchsvariante "saurer Regen + Kalk" die Steigerung der Zuckerkonzentration deutlich geringer ausfällt als bei den beiden anderen Kalkungsvarianten.

Die Untersuchung der phenol. OH-Gruppen erbringt, daß 1.0 bis 6.6% des DOC in Form phenol. C-Atome vorliegen. Dabei ist der mittlere Anteil auf den gekalkten Flächen mit 2.9% signifikant niedriger als auf den ungekalkten Parzellen mit 5.0%.

5.3. Komplexierungs- und pH-Verhalten der WOS

Die WOS sind aufgrund ihres Gehaltes an funktionellen Gruppen in der Lage Metallionen zu komplexieren. Exemplarisch durchgeführte Untersuchungen zur Komplexierung von Aluminium zeigen, daß vor allem die polare HPLC-Fraktion zur Bildung Al-organischer Komplexe beiträgt.

Durch die Kalkung wird der Komplexierungsgrad von Al, Fe, Cu, und Zn bis in den Ah-Horizont erhöht. Die Fülle der im Untersuchungszeitraum erhobenen Daten ermöglicht eine Auswertung der Metallionenkomplexierung in Abhängigkeit vom pH-Wert. Dabei werden für $\text{pH} \approx 3.5$ die Stabilitätsreihe $\text{Cu} \geq \text{Al} \geq \text{Fe} \gg \text{Zn} \approx \text{Pb} \gg \text{Ca} = \text{Mg} = \text{Mn}$ und für $\text{pH} \approx 5.0$ die Reihe $\text{Cu} > \text{Fe} > \text{Al} > \text{Zn} > \text{Pb} \gg \text{Ca} = \text{Mg} = \text{Mn}$ erhalten. Die im Freilandexperiment Höglwald beobachtete pH-Abhängigkeit der Komplexierung von Metallionen weicht zum Teil erheblich von Literaturwerten ab.

Aus dem Zusammenhang zwischen dem Fehlbetrag in der anorganischen Ionenbilanz und dem Gehalt an WOS läßt sich für die Auflagehorizonte eine mittlere freie Ladung der WOS von 6.7 mval/g errechnen. Bei Berücksichtigung der durch Komplexierung besetzten negativen Ladungsträger kann eine mittlere Gesamtladung von 7.2 mval/g abgeleitet werden.

Im pH-Bereich des Wasserextraktes von 6.0 bis 6.5 ergibt sich ein Maximum des organischen C-Gehaltes, wobei dies vor allem die weniger polare Fraktion betrifft. Die Simulation des Einflusses von CaCO_3 auf eine hypothetische Humussäure anhand eines kinetischen Computermodelles ergibt ein dem Freilandexperiment sehr ähnliches pH-abhängiges Lösungsverhalten. Dabei wird die Löslichkeit im niedrigen pH-Bereich durch die Protonierung negativer Ladungsträger, im pH-Bereich über 6.0 durch die Bildung schwerlöslicher Calciumkomplexe herabgesetzt.

6. Experimentalteil

6.1. Allgemeine Meßmethodik

Für routinemäßige Elementbestimmungen kamen folgende Geräte und Methoden zum Einsatz:

Gesamtgehalte an Al, B, Ca, Fe, Mg, Mn, K, Na, Zn	
ICP-AES	Plasmakon S53 der Fa. Kontron
Gesamtgehalte an Cd, Cu, Pb	
Graphitrohr-AAS	Perkin Elmer 2380 mit HGA 500
freies Cd, Cu, Pb, Zn	
Voltammetrie	Metrohm 646 VA Prozessor mit 647 VA Stand
Ammonium	
Auto-Analyzer	Technicon
NO₃, Cl, SO₄, F, NO₂, PO₄	
Ionenchromatograph	Dionex 2010i (Trennsäule HPIC-AS3)
Gesamtgehalte C u. N	
Elementaranalysator	Heraeus CHN-Rapid mit Liquid-Injection-Zusatz
pH-Wert	
WTW pH-Meter, Ingold-Elektrode	
UV-Messungen	
Spektrophotometer	Perkin Elmer 550 SE

6.2. Methode zur Bestimmung des komplexierten Anteils

Zur Bestimmung des freien, bzw. komplexierten Anteils der Metallionen des Wasserextraktes verwendeten wir eine Methode, die darauf beruht, daß der Wasserextrakt mit einem Ionenaustauscher ins Gleichgewicht gebracht wird. Alle Metallionen, die nicht komplex gebunden sind, bzw. deren Stabilitätskonstanten kleiner sind als die Stabilitätskonstante mit dem verwendeten Austauscherharz werden der Lösung entzogen. Die in Lösung

verbleibenden Metallionen werden analytisch bestimmt und repräsentieren den komplexierten Anteil.

Diese Ionenaustauscher-Methode wird schon seit längerem angewendet, wobei vor allem das Austauscherharz DOWEX 50W (von Serva) in der Natrium- bzw. Kaliumform zum Einsatz kommt (VERLOO u. COTTENIE 1972; SCHNITZER u. SKENNER 1966, 1967).

Wir verwendeten aus diesem Grund ebenfalls die DOWEX-Methode zur Bestimmung der komplexierten Metallionen, wobei in einem Batch-Verfahren 10ml Wasserextrakt für 10min mit 5g DOWEX 50WX8 mesh 20-50 (Na-Form) equilibriert werden und der Überstand anschließend mit den eingesetzten Standardmethoden auf die in Lösung gebliebenen komplexierten Metallionen untersucht wird.

6.3. Stickstoff-, Zucker und Phenolbestimmung

Zuckerbestimmung

Kolorimetrische Bestimmung von Zuckerfraktionen mit Anthron (BRINK et al. 1960; YEMM u. WILLIS 1954) modifiziert nach einem Vorschlag von ALCUBILLA, HEIBL (persönl. Mitteilung).

Reagenzien:

Anthronreagenz: 0.2g Anthron in 100ml 75% H_2SO_4 lösen.
Reagenz ca. 30min vor Gebrauch herstellen

Bleiacetatlösung: 37.5g Bleiacetat in 1l H_2O dest
Natriumsulfatlösung: 30g $Na_2SO_4 \cdot 10H_2O$ in 1l H_2O dest

Durchführung:

Zur Bestimmung der "freien" Zucker werden 3.0ml Probelösung mit 1.0ml Pb-Acetatlösung versetzt. Nach dem sich eine voluminöse, braune Huminstoffausfällung gebildet hat, wird das überschüssige Blei durch die Zugabe von 1.25ml Natriumsulfatlösung quantitativ ausgefällt. Nach dem sich der Niederschlag abgesetzt hat, zentrifugieren ist meist nicht nötig, wird 1ml des wasserklaren Überstandes in ein Reagenzglas pipettiert und im Eisbad mit 5.0ml Anthronreagenz versetzt. Die Reaktionslösung wird kräftig ge-

schüttelt und anschließend im Thermoblock (WTW TB4) bei 95°C 10min erhitzt. Nach dem Erkalten auf Zimmertemperatur wird die optische Dichte bei 625nm gemessen. Durch erneute Sulfatausfällung trüb gewordene Proben (vor allem aus gekalkten Varianten) müssen vor der UV-Messung zentrifugiert werden.

Zur Bestimmung des Gesamtzuckergehaltes und bei Standardlösungen wird keine Bleiacetatfällung durchgeführt. Statt dessen werden diese Proben durch Zugabe von 2.25ml H₂O dest auf 3.0ml Probelösung verdünnt und anschließend wie oben behandelt.

Da die Anthronreaktion in hohem Maß von der Temperatur und Dauer der Heizphase abhängt, wird bei jeder Thermoblockfüllung eine Standardreihe mitgemessen. Die Standards werden aus einer Glucose-Stammlösung der Konzentration 500mg/l hergestellt und sollen den erwarteten Wertebereich möglichst gut abdecken.

Stickstoffbestimmung

Kolorimetrische Mikromethode zur Bestimmung des Gesamtstickstoffs mit Nessler's Reagenz, modifiziert nach STRAUCH (1965)

Reagenzien:

Aufschlußlösung: 2.0g Selen werden in 250.0ml konzentrierter H₂SO₄ solange zum Sieden erhitzt, bis die Lösung klar und farblos geworden ist. Nach dem Erkalten werden tropfenweise unter Kühlung 250.0ml einer gestättigten K₂SO₄-Lösung zugegeben.

Nessler Mischreagenz: 50.0ml Nessler Reagenz A und 50.0ml Nessler Reagenz B (Merck Darmstadt) kurz vor Gebrauch mischen

Durchführung:

In einem graduierten Reagenzglas werden 0.5ml Probe- bzw. Eichlösung (bei Mineralbodenhorizonten 1.0ml Probe/ Eichlösung) mit 0.5ml Aufschlußreagenz versetzt. Die Proben werden in die Bohrungen des auf 100°C

vorgeheizten Thermoblockes eingesetzt und der Temperaturregler auf 360°C eingestellt. Nach ca. 30min ist die Endtemperatur erreicht. Der Aufschluß wird weitere 60min fortgeführt, so daß klare, farblose Flüssigkeiten erhalten werden. Die Proben werden aus dem Aufschlußgerät entnommen und auf Zimmertemperatur abkühlen lassen. Anschließend wird mit H₂O dest auf 3.5ml aufgefüllt und ein Teil der Säure durch Zugabe von 0.5ml 28%-iger NaOH neutralisiert. Die so behandelten Proben werden mit 3.5ml Nessler-Mischreagenz versetzt und die optische Dichte nach 10min bei 420nm bestimmt.

Die Auswertung erfolgt anhand einer Eichgeraden, die mit Standardlösungen aus Asparaginsäure erstellt wird.

Phenolbestimmung

Kolorimetrische Gesamtphenolbestimmung nach HORWITZ (1960)

Reagenzien:

Folin-Ciocalteaus-Reagenz: Vor Gebrauch Folin-Ciocalteaus-Phenolreagenz (Merck 9011) im Verhältnis 1:3 mit Wasser verdünnen

Natrium-Carbonat-Lösung: 14.0g Na₂CO₃ in 100ml Wasser lösen

Durchführung:

0.5ml Probe- bzw. Eichlösung werden in ein graduiertes Reagenzglas pipettiert und mit dest. H₂O auf 5.0ml aufgefüllt. Anschließend werden 1.5ml verdünntes Folin-Ciocalteaus-Reagenz und 1ml Na₂CO₃-Lösung zugegeben und durch Schütteln gemischt. Nachdem die Proben im Thermoblock für 5min auf 95°C erhitzt wurden, läßt man sie erkalten und bestimmt die optische Dichte bei 760nm.

Die Auswertung erfolgt anhand einer Eichgeraden, die mit Salicylsäure als Standardsubstanz erstellt wird.

6.4. Datenverarbeitung und Auswertung

Die Erfassung und Auswertung von Analysendaten, sowie die Durchführung sämtlicher Berechnungen erfolgte auf lehrstuhleigenen Personal Computern mit MS-DOS Betriebssystem (HP Vectra; Commodore PC 10, PC 20, PC-AT). Neben selbstgeschriebenen Computerprogrammen kamen folgende Software-Produkte zum Einsatz:

Tabellenkalkulation:	Lotus 1-2-3 Version 2.1 (Lotus Corp.)
Datenbanksystem....:	Reflex Version 1.13h (Borland/Heimsoeth)
Statistik.....:	SPSS PC+ (SPSS Inc.)
Textverarbeitung...:	MS Word 3.0 (Microsoft)
Präsentationsgrafik:	Boeing Graph 3D (Boeing)
Programmiersprachen:	GW-Basic 2.02 (Microsoft)
	Modula 2 M2SDS (Interface Technologies)

7. Literaturverzeichnis

- ABRAHAMSEN G., J. HOVLAND u. S. HAGVAR 1980: Effects of artificial acid rain and liming on soil organisms and the decomposition of organic matter. in: T.C. Hutchinson u. M. Havas, Effects of acid precipitation on terrestrial ecosystems, NATO Conference Series Vol 4 S.341, Plenum Press, New York 1980.
- ANDERSON H.A. u. A. HEPBURN 1977: Fractionation of humic acid by gel-permeation chromatography. J. Soil Sci. 28, 634.
- BAUER F. 1986: Datenanalyse mit SPSS. 2.Aufl., Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- BECHER G., G. OESTVOLD, P. PAUS u. H.M. SEIP 1983: Complexation of copper by aquatic humic matter studied by RP-HPLC and AAS. Chemosphere 12, 1209.
- BENOIT R.E. u. R.L. STARKEY 1968: Inhibition of decomposition of cellulose and some other carbohydrates by tannin. Soil Sci. 105, 291.
- BRINK R.H., P. DUBACH u. D.L. LYNCH 1960: Measurement of carbohydrates in soil hydrolyzates with anthrone. Soil Sci. 89, 157.
- BUTZGE H. 1981: Versauern unsere Wälder? Erste Ergebnisse der Überprüfung 20 Jahre alter pH-Wert-Messungen in Waldböden Nordrhein-Westfalens. Der Forst- u. Holzwirt 35, 542.
- CAMERON R.S., R.S. SWIFT, B.K. THORNTON u. A.M. POSNER 1972: Calibration of gelpermeation chromatography materials for use with humic acid. J. Soil Sci. 23, 333.
- CHANG D.J. 1986: Chromatographic and spectroscopic studies on aquatic fulvic acid. Dissertation, Denton Texas.
- CHESIRE M.V., M.P. GREAVES u. C.M. MUNDIE 1974: Decomposition of soil polysaccharide. J. Soil Sci. 25, 483.
- CREED C.G. 1976: LC simplifies isolating organics from water. Research/Development 27, 40.
- CRONAN C.S. 1980: Controls on leaching from coniferous forest floor microcosms. Plant a. Soil 56, 301.
- CRONAN C.S. 1985: Comparative effects of precipitation acidity on three forest soils: carbon cycling responses. Plant a. Soil 88, 101.
- DAWSON H.J., B.F. HRUTFIORD, R.J. ZASOSKI u. F.C. UGOLINI 1981: The molecular weight and origin of yellow organic acids. Soil Sci. 132, 191.
- DELL'AGNOLA G. u. G. FERRARI 1971: Molecular sizes and functional groups of humic substances extractet by pyrophosphate from soil aggregates of different stability. J. Soil Sci. 22, 342.

- DRISCOLL C.T., N. VAN BREEMEN u. J. MULDER 1985: Aluminum chemistry in a forested spodosol. Soil Sci. Soc. Am. J. 49, 437.
- ENGELHARDT H. 1977: Hochdruck-Flüssigkeits-Chromatographie. 2.Aufl., Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- EVANS L.T. u. E.W. RUSSELL 1959: The adsorption of humic and fulvic acids by clays. J. Soil Sci. 10, 119.
- FLAIG W. 1971: Organic compounds in soil. Soil Sci. 111, 19.
- FLAIG W., H. BEUTELSPACHER u. E. RIETZ 1975: Chemical composition and physical properties of humic substances. in: J.E. Gieseking, Soil Components Vol.1 Organic Components, 1.Aufl., Springer Verlag, New York.
- FREUDENBERG K. 1933: Tannin, Cellulose, Lignin, 2.Aufl., Springer Verlag Berlin.
- FRIMMEL F.H. 1986: Zum Einfluß der Isolierungsmethode auf die Metallkomplexierungsfähigkeit aquatischer Huminstoffe. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 45, 27.
- GARDINER P.E., R. SCHIERL u. K. KREUTZER 1987: Aluminum speciation in soil solutions as studied by size exclusion chromatography. Plant a. Soil 103, 151.
- GHOSH K. u. M. SCHNITZER 1980: Macromolecular structures of humic substances. Soil Sci. 129, 266.
- GLATZEL G., M. KAZDA u. M. SIEGHARDT 1986: Zur Frage der Melioration versauerter Böden aus schadstoffbelasteten Buchenwäldern durch Zufuhr von Kalk oder halbgebranntem Dolomit. Ein Gefäßversuch mit Rotbuche. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 149, 658.
- GÖTTLEIN A., K. KREUTZER u. R. SCHIERL 1986: Untersuchungen über die Auftrennung wasserlöslicher organischer Stoffe in Waldböden mittels HPLC Mitteilgn. Dtsch. Bodenkdl. Gesellsch. 45, 53.
- GREENLAND D.J. u. J.M. OADES 1975: Saccharides. in: J.E. Gieseking, Soil Components Vol.1 Organic Components, 1.Aufl., Springer Verlag, New York.
- GRENZIUS R. 1984: Starke Versauerung der Waldböden Berlins. Forstw. Cbl. 103, 131.
- GRUHN A., G. MATTHESS, A. PEKDEGER u. A. SCHOLTIS 1985: Die Rolle der gelösten organischen Substanz beim Transport von Schwermetallen in der ungesättigten Bodenlösung. Z. dt. geol. Ges. 136, 417.
- GUSSONE H.A., F.H. EVERS u. R. HÜSER 1985: Forstliche Düngung. AID-Schrift 114.

- HAIDER K. u. J.P. MARTIN 1967: Synthesis and transformation of phenolic compounds by *Epicoccum nigrum* in relation to humic acid formation. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.* 31, 766.
- HARTLEY R.D. u. H. BUCHAN 1979: HPLC of phenolic acids and aldehydes derived from plants or from the decomposition of organic matter in soil. *J. Chromatogr.* 180, 139.
- HAY G.W., J.H. JAMES u. G.W. VANLOON 1985: Solubilization effects of simulated acid rain on the organic matter of forest soil; preliminary results. *Soil Sci.* 139, 422.
- HAYES R.J. u. R.S. SWIFT 1985: Effects of soil acidification on the chemical extractability of Fe, Mn, Zn and Cu and the growth and micronutrient uptake of highbush blueberry plants. *Plant a. Soil* 84, 201.
- HAYES R.J. u. R.S. SWIFT 1985b: Effects of liming on the extractability of Fe, Mn, Zn, and Cu from a peat medium and the growth and micronutrient uptake of highbush blueberry plants. *Plant a. Soil* 84, 213.
- HAYES M.H.B., R.S. SWIFT, R.E. WARDLE u. J.K. BROWN 1975: Humic materials from an organic soil: a comparison of extractants and of properties of extracts. *Geoderma* 13, 231.
- HERMS U. u. G. BRÖMMER 1984: Einflußgrößen der Schwermetalllöslichkeit und -bindung in Böden. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 147, 400.
- HESSE M., H. MEIER u. B. ZEEH 1979: *Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie*. 1.Aufl., Thieme Verlag, Stuttgart.
- HILDEBRAND E.E. 1986: Ein Verfahren zur Gewinnung der Gleichgewichts-Bodenporenlösung. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 149, 340.
- HORWITZ 1959: Official methods of analysis of the association of official agricultural chemists. 9.Aufl., Association of Official Agricultural Chemists, Washington.
- HOVLAND J., G. ABRAHAMSEN u. G. OGNER 1980: Effects of artificial acid rain on decomposition of spruce needles and on mobilisation and leaching of elements. *Plant a. Soil* 56, 365.
- HUANG P.M., T.S.C. WANG, M.K. WANG, M.H. WU u. N.W. HSU 1977: Retention of phenolic acids by noncrystalline hydroxyaluminium and iron compounds and clay minerals of soils. *Soil Sci.* 123, 213.
- HUE N.V., G.R. CRADDOCK u. F. ADAMS 1986: Effect of organic acids on aluminum toxicity in subsoils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 50, 28.
- HUMMEL D.O. u. W.J. MOORE 1976: *Physikalische Chemie*. 2.Aufl., de Gruyter, Berlin-New York.
- HUTTENBACH A. 1983: Auswirkung saurer Deposition auf die Physiologie des Wurzelraumes von Waldökosystemen. *AFZ* 26/27, 663.

- ISERMANN K. 1983: Bewertung natürlicher u. anthropogener Stoffeinträge über die Atmosphäre als Standortfaktoren im Hinblick auf die Versauerung land- und forstwirtschaftlich genutzter Böden. VDI-Berichte 500, 307.
- ISERMANN K. 1985: Diagnose und Therapie der neuartigen Waldschäden aus der Sicht der Waldernährung. Vortrag VDI-Kolloquium Waldschäden, Goslar.
- ISERMANN K. 1985b: Atmosphärische und pedogene Protonenanlieferung in land- u. forstwirtschaftlich genutzten Böden unter besonderer Berücksichtigung der Rhizosphärenverhältnisse. Vortrag DBG-Tagung, Göttingen.
- IVARSON K.C. u. F.J. SOWDEN 1962: Methods for the analysis of carbohydrate material in soil: I. colorimetric determination of uronic acids, hexoses and pentoses. Soil Sci. 94, 245.
- JALAL M.A.F. u. D.J. READ 1983: The organic acid composition of calluna heathland soil with special reference to phyto- and fungitoxicity. Plant a. Soil 70, 273.
- JARDINE P.M. u. L.W. ZELAZNY 1987: Influence of organic anions on the speciation of mononuclear and polynuclear aluminum by ferron. Soil Sci. Soc. Am. J. 51, 885.
- JAUREGUI M.A. u. H.M. REISENAUER 1982: Dissolution of oxides of Mn and Fe by root exudate components. Soil Sci. Soc. Am. J. 46, 314.
- JÜTTNER O. 1959: Wirkung des Kalkes auf küstennahen Rohhumusböden. in: Der Wald braucht Kalk, 3.Aufl., Universitätsverlag, Köln.
- KASSIM G., D.E. STOTT, J.P. MARTIN u. K. HAIDER 1981: Stabilization and incorporation into biomass of phenolic and benzenoid carbons during biodegradation in soil. Soil Sci. Soc. Am. J. 46, 305.
- KATASE T. 1981: The different forms in which p-hydroxybenzoic, vanillic and ferulic acids exist in peat soils. Soil Sci. 132, 436.
- KATAYAMA K., M. HIRAI, M. SHODA u. H. KUBOTA 1986: High performance size exclusion chromatography of water extract from sewage sludge-soil mixture. Soil Sci. Plant Nutr. 32, 479.
- KAURICHEV I.S., T.N. IVANOVA u. Y.M. NOZDRUNOVA 1963: Low-molecular organic acid content of water-soluble organic matter in soils. Pochvovedeniye 3, 27.
- KHAIRY A.H. u. W. ZIECHMANN 1981: Die Veränderung von Huminsäuren in alkalischer Lösung. Z. Pflanzenern. Bodenk. 144, 407.
- KILHAM O.W. u. M. ALEXANDER 1984: A basis for organic matter accumulation in soils under anaerobiosis. Soil Sci. 137, 419.
- KINNEBURGH D.G. u. D.L. MILES 1983: Extraction and chemical analysis of interstitial water from soils and rocks. Environ. Sci. Technol. 17, 362.

- KÖGEL I. 1983: Reversed phase HPLC of naturally occurring phenolic acids in soils. Z. Pflanzenern. Bodenk. 146, 525.
- KÖGEL I. 1985: Erfassung der Ligninkomponente in Waldhumusformen. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 43/I, 377.
- KÖGEL I. 1987: Organische Stoffgruppen in Waldhumusformen und ihr Verhalten während der Streuzersetzung und Humifizierung. Bayreuther Bodenkundliche Berichte, Band 1, Bayreuth.
- KÖGEL I. u. W. ZECH 1985: The phenolic acid content of cashew leaves and of the associated humus layer. Geoderma 35, 119.
- KÖNIG N. 1985: Molekülgrößenverteilung, Komplexierungs- u. Adsorptionsverhalten natürlicher organischer Substanzen eines sauren Waldbodens und ihr Einfluß auf die Schwermetallkonzentration in der Bodenlösung. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 43/I, 383.
- KÖNIG N., P. BACCINI u. B. ULRICH 1986: Der Einfluß der natürlichen organischen Substanzen auf die Metallverteilung zwischen Boden und Bodenlösung in einem sauren Waldboden. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 149, 68.
- KREUTZER K. 1987: Der Einfluß von Bestockung, Standort und Deposition auf den Stickstoffhaushalt und den Nitrataustrag. Vortrag Forstliche Hochschulwoche, München.
- KREUTZER K. u. J. BITTERSÖHL 1986: Untersuchungen über die Auswirkungen des sauren Regens und der kompensatorischen Kalkung im Wald. Forstw. Cbl. 105, 273.
- KREUTZER K. u. L. ZELLES 1986: Die Auswirkungen von saurer Beregnung und Kalkung auf die mikrobielle Aktivität im Boden. Forstw. Cbl. 105, 314.
- KRUG E.C. u. P.J. ISAACSON 1984: Comparison of water and dilute acid treatment on organic and inorganic chemistry of leachate from organic-rich horizons of an acid forest soil. Soil Sci. 137, 370.
- KUWATSUKA S. u. H. SHINDO 1973: Identification and quantitative determination of phenolic acids in rice straw and its decayed product by gas chromatography. Soil Sci. Plant Nutr. 19, 219.
- LAMERSDORF N. u. N. KÖNIG 1985: Der Einfluß von Düngungsmaßnahmen auf den Schwermetall-Output in 100cm Bodentiefe und die Reaktion des pH-Wertes, des organischen C-Gehaltes ... Mitteilgn. Dtsch. Bodenkundl. Gesellsch. 43/I, 403.
- LANG E. u. F. BEESE 1985: Die Reaktion der mikrobiellen Bodenpopulation eines Buchenwaldes auf Kalkungsmaßnahmen. AFZ 43, 1166.

- LEHMANN R.G., H.H. CHENG u. J.B. HARASH 1987: Oxidation of phenolic acids by soil iron and manganese oxides. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 51, 352.
- LOHWASSER W. 1959: Anzucht und Leistung der Buche nach Kalkung. in: *Der Wald braucht Kalk*, 3.Aufl., Universitätsverlag, Köln.
- MANLEY E.P. u. L.J. EVANS 1986: Dissolution of feldspars by low-molecular-weight aliphatic and aromatic acids. *Soil Sci.* 141, 106.
- MARTIN J.P. u. K. HAIDER 1971: Microbial activity in relation to soil humus formation. *Soil Sci.* 111, 54.
- MARTIN A.E. u. R. REEVE 1960: Chemical studies of podzolic illuvial horizons IV. The flocculation of humus by aluminum. *J. Soil Sci.* 11, 369.
- MARTINI J.A. u. R.G. MUTTERS 1985: Effect of lime rates on nutrient availability, mobility and uptake during soybean-growing season: Al, Mn u. P. *Soil Sci.* 139, 219.
- MATZNER E. 1985: Auswirkungen von Düngung und Kalkung auf den Elementumsatz und die Elementverteilung in zwei Waldökosystemen im Solling. *AFZ* 43, 1143.
- MATZNER E. u. E. THOMA 1983: Auswirkung eines saisonalen Versauerungsschubes in Sommer/Herbst 1982 auf den chemischen Bodenzustand verschiedener Waldökosysteme. *AFZ* 26/27, 677.
- MATZNER E. u. B. ULRICH 1984: Raten der Deposition, der internen Produktion und des Umsatzes von Protonen in zwei Waldökosystemen. *Z. Pflanzenernähr. Bodenk.* 147, 290.
- MCCOLL J.G. u. A.A. POHLMAN 1986: Soluble organic acids and their chelating influence on Al and other metal dissolution from forest soils. *Water Air Soil Pollut.* 31, 917.
- MEIWES K.J., N. KÖNIG, P.K. KHANNA, J. PRENZEL u. B. ULRICH 1984: Chemische Untersuchungsverfahren für Mineralboden, Auflagehumus und Wurzeln zur Charakterisierung und Bewertung der Versauerung in Waldböden. in: *Berichte des Forschungszentrums Waldökosysteme/Waldsterben Bd.7*, Selbstverlag des Forschungszentrums, Göttingen.
- METTIN C. 1985: Betriebswirtschaftliche und ökologische Zusammenhänge zwischen Standortskraft und Leistung in Fichtenreinbeständen u. Fi/Bu-Mischbeständen. *AFZ* 30-32, 803.
- NAGELS L.J., W.L. CRETEN u. L. VAN HAVERBEKE 1985: Determination limits in HPLC of plant phenolic compounds with an UV detector. *Analitica Chimica Acta* 173, 185.
- NGKEEKWONG K.F. u. P.M. HUANG 1979: The relative influence of low-molecular-weight complexing organic acids on the hydrolysis and precipitation of aluminum. *Soil Sci.* 128, 337.

- OGNER G. 1985: A comparison of four different raw humus types in Norway using chemical degradations and CPMAS ^{13}C -NMR spectroscopy. *Geoderma* 35, 343.
- PARSONS J.W. u. J. TINSLEY 1975: Nitrogenous Substances. in: J.E. Gieseking, *Soil Components Vol.1 Organic Components*, 1.Aufl., Springer Verlag, New York.
- PIPER T.J. u. A.M. POSNER 1968: On the amino acids found in humic acid. *Soil Sci.* 106, 188.
- PLASMANN E. 1959: Kalkdüngung auf den Rohhumusböden im Forstamt Neuenheerse. in: *Der Wald braucht Kalk*, 3.Aufl., Universitätsverlag, Köln.
- POHLMAN A.A. u. J.G. MCCOLL 1986: Kinetics of metal dissolution from forest soils by soluble organic acids. *J. Environ. Qual.* 15, 86.
- PORTER L.K. 1967: Factors affecting the solubility and possible fractionation of organic colloids extracted from soil and leonardite with an acetone- H_2O -HCl solvent. *J. Agr. Food Chem.* 15, 807.
- POSNER A.M. 1966: The humic acids extracted by various reagents from a soil Part 1; Yield, inorganic components and titration curves. *J. Soil Sci.* 17, 65.
- PRESTON C.M. u. B.A. BLACKWELL 1985: C^{13} -NMR for a humic and a fulvic acid: signal-to-noise optimization, quantitation and spin-echo techniques. *Soil Sci.* 139, 88.
- PURI A.N. u. A. SARUP 1938: Studies in soil humus: II. Potentiometric study of the formation of humic acid and humates. *Soil Sci.* 45, 165.
- REITER H., J. BITTERSÖHL, R. SCHIERL u. K. KREUTZER 1986: Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf austauschbare und gelöste Ionen im Boden. *Forstw. Cbl.* 105, 300.
- RIBERAU-GAYON P. 1972: *Plant Phenolics*. 1.Aufl., Oliver&Boyd, Edinburgh.
- RIFFALDI R. u. M. SCHNITZER 1973: Effects of 6N HCl hydrolysis on the analytical characteristics and chemical structure of humic acids. *Soil Sci.* 115, 349.
- RÖHLE H. 1986: Ertragskundliche Zustandserfassung und Zuwachs des Fichtenaltbestandes im Höglwald vor der experimentellen Behandlung. *Forstw. Cbl.* 105, 283.
- RODENKIRCHEN H. 1986: Auswirkungen von saurer Beregnung und Kalkung auf die Vitalität, Artenmächtigkeit und Nährstoffversorgung der Bodenvegetation eines Fichtenbestandes. *Forstw. Cbl.* 105, 338.
- ROST-SIEBERT K. 1983: Aluminium-Toxizität und -Toleranz an Keimpflanzen von Fichte und Buche. *AFZ* 27, 686.

- ROST-SIEBERT K. 1985: H- und Al-Ionen-Toxizität an Fichten- und Buchenkeimpflanzen. Mitteilgn. Dtsch. Bodenkdl. Gesellsch. 43/I, 447.
- SCHEFFER F. u. B. ULRICH 1960: Lehrbuch der Agrikulturchemie und Bodenkunde Teil 3 Humus und Humusdüngung. Bd.2 2.Aufl., Enke Verlag, Stuttgart.
- SCHIERL R., A. GOTTLEIN, E. HORMANN, D. TROBENBACH u. K. KREUTZER 1986: Einfluß von saurer Beregnung und Kalkung auf Humusstoffe sowie die Aluminium- und Schwermetалldynamik in wäßrigen Bodenextrakten. Forstw. Cbl. 105, 309.
- SCHMID E. 1959: Ergebnisse sechsjähriger Kalkdüngungsversuche, in: Der Wald braucht Kalk. 3.Aufl., Universitätsverlag, Köln.
- SCHNITZER M. 1969: Reactions between fulvic acid, a soil humic compound and inorganic soil constituents. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 33, 75.
- SCHNITZER M. u. E.H. HANSEN 1970: Organometallic interactions in soils: An evaluation of methods for the determination of stability constants of metal-fulvic acid complexes. Soil Sci. 109, 333.
- SCHNITZER M. u. S.I.M. SKINNER 1967: Organometallic interactions in soils: 7 stability constants of Pb, Ni, Mn, Co, Ca and Mg-fulvic acid complexes. Soil Sci. 103, 247.
- SCHNITZER M. u. S.I.M. SKINNER 1966: Organometallic interactions in soils: 5. Stability constants of Cu, Fe and Zn-fulvic acid complexes. Soil Sci. 102, 361.
- SCHNITZER M. u. M. SPITELLER 1986: The Chemistry of the unknown soil nitrogen. XIII IBG-Kongress, Band II S.473, Hamburg.
- SHINDO H. u. S. KUWATSUKA 1975: Degradation pathway of phenolic acids. Soil Sci. Plant Nutr. 21, 227.
- SHINDO H. u. S. KUWATSUKA 1978: Changes in the quality and quantity of phenolic substances in the decaying process of rice straw, ladino clover and red oak leaves. Soil Sci. Plant Nutr. 24, 221.
- SHINDO H. u. S. KUWATSUKA 1976: Adsorption and movement of phenolic acids in soils. Soil Sci. Plant Nutr. 22, 23.
- SHINDO H., S. OHTA u. S. KUWATSUKA 1978: Distribution of phenolic acids in soils of paddy fields and forests. Soil Sci. Plant Nutr. 24, 233.
- SIEGFRIED R., H. RÖCKEMANN u. G. STUMPF 1984: Eine HPLC-Methode zur Bestimmung organischer Säuren in Silagen. Landwirtsch. Forsch. 37, 298.
- STILLEN L.G. u. A.E. MARTELL 1964: Stability constants of metal-ion complexes. The Chemical Society, London.

- STEVENSON F.J. 1982: Humus Chemistry. 1.Aufl., Wiley-Interscience, New York.
- STMELF 1973: Düngungsrichtlinien für die Forstwirtschaft. Bayerisches Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten, München.
- STRAUCH L. 1965: Ultramikro-Methode zur Bestimmung des Stickstoffes in biologischem Material. Z. klin. Chem. 3, 165.
- SWEET M.S. u. E.M. PERDUE 1982: Concentration and speciation of dissolved sugars in river water. Environ. Sci. Technol. 16, 692.
- SWIFT R.S. u. A.M. POSNER 1971: Gelchromatography of humic acids. J. Soil Sci. 22, 237.
- TAN K.H. 1977: High and low molecular weight fractions of humic and fulvic acids. Plant a. Soil 48, 89.
- TAN K.H. u. A. BINGER 1986: Role of humic acid in aluminum tolerance of corn plants. XIII IBG-Kongress, Band II S.513, Hamburg.
- THURMAN E.M. 1985: Organic geochemistry of natural waters. 1.Aufl. Nijhoff Junk Publishers, Dortrecht.
- TSUTSUKI K. u. S. KUWATSUKA 1984: Molekular size distribution of humic acids as affected by the ionic strength and the degree of humification. Soil Sci. Plant Nutr. 30, 151.
- TURKELSON V.T. u. M. RICHARDS 1978: Separation of citric acid cycle acids by liquid chromatography. Anal. Chem. 50, 1420.
- ULRICH B. 1981: Theoretische Betrachtungen des Ionenkreislaufs in Waldökosystemen. Z. Pflanzenern. Bodenk. 144, 647.
- ULRICH B. 1986: Natural and anthropogenic components of soil acidification. Z. Pflanzenernähr. Bodenk. 149, 702.
- ULRICH B. 1986b: Die Rolle der Bodenversauerung beim Waldsterben: Langfristige Konsequenzen und Möglichkeiten. Forstw. Cbl. 105, 421.
- VERLOO M. u. A. COTTENIE 1972: Stability and behaviour of complexes of Cu, Zn, Fe, Mn a. Pb with humic substances of soils. Pedologie 22, 174.
- WEAST R.C. 1983: CRC Handbook of Chemistry and Physics. 64.Aufl., CRC Press, Boca Raton
- WERNER W. 1978: Einsatz der HPLC in der Umweltanalytic. GIT Fachzeitschrift für das Laboratorium 22, 785.
- WILSON M.A. 1981: Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy to the study of soil organic matter. J. Soil Sci. 32, 167.

- WITTICH W. 1952: Der heutige Stand unseres Wissens vom Humus und neue Wege zur Lösung des Rohhumusproblems im Walde. Schriftenreihe der Forstlichen Fakultät der Universität Göttingen, Bd.4, Frankfurt.
- WITTMANN O. u. K.D. FETZER 1982: Aktuelle Bodenversauerung in Bayern. in: Materialien Heft Nr.20, Bayerisches Staatsministerium für Landesentwicklung und Umweltfragen, München.
- WRIGHT J.R. u. M. SCHMITZER 1963: Metallo-organic interactions associated with podzolisation. Soil Sci. Soc. Am. Proc. 27, 171.
- YEM E.W. u. A.J. WILLIS 1954: The estimation of carbohydrates in plant extracts by anthrone. Biochem. J. 57, 508.
- ZEESCHWITZ E.v. 1985: Qualitätsänderungen des Waldhumus. Forstw. Cbl. 104, 205.

Lebenslauf:

persönl. Daten:

Axel Göttlein
geb. am 6.3.1960
in Aschaffenburg

Schulbildung:

- 1966-1970 Volksschule Waldaschaff
- 1970-1979 Friedrich-Dessauer-Gymnasium Aschaffenburg
- 1979-1983 Chemiestudium an der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
- 1983-1984 Anfertigung der Diplomarbeit zum Thema:
"Einige Studien zur Synthese und Reaktivität von
Metall-Phosphor-Doppelbindungseinheiten" am
Institut für Anorganische Chemie der UNI Würzburg
- 1984-1988 Anfertigung der vorliegenden Dissertation am
Lehrstuhl für Bodenkunde und Standortlehre der
Ludwig-Maximilians-Universität München

